



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



⑪ Número de publicación: **2 352 704**

⑫ Número de solicitud: 200802310

⑤① Int. Cl.:
C12N 15/56 (2006.01)
C12N 9/38 (2006.01)

⑫

SOLICITUD DE PATENTE

A1

⑫② Fecha de presentación: **08.08.2008**

⑫③ Fecha de publicación de la solicitud: **22.02.2011**

⑫④ Fecha de publicación del folleto de la solicitud:
22.02.2011

⑦① Solicitante/s: **Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC)** (Titular al 80 %)
c/ Serrano, 117
28006 Madrid, ES
Universidad Complutense de Madrid (Titular al 20 %)

⑦② Inventor/es: **Serra Fernández, Beatriz;**
Llull Peñalba, Daniel;
García López, José Luis;
Pingarrón Cazarrón, José Manuel;
García González, Pedro y
Campuzano Ruiz, Susana

⑦④ Agente: **Pons Ariño, Ángel**

⑤④ Título: **Secuencia de nucleótido y proteína β -galactosidasa de *Streptococcus mitis*, procedimiento de obtención y sus aplicaciones.**

⑤⑦ Resumen:

Secuencia de nucleótido y proteína β -galactosidasa de *Streptococcus mitis*, procedimiento de obtención y sus aplicaciones.

La presente invención describe una proteína inédita β -galactosidasa de *Streptococcus mitis* que presenta motivos de unión a colina en su estructura y que no se inhibe en presencia de elevadas concentraciones de glucosa. También se describen dos procedimientos de purificación de β -galactosidasas modificadas en un hospedador heterólogo (*Escherichia coli*).

ES 2 352 704 A1

DESCRIPCIÓN

Secuencia de nucleótido y proteína β -galactosidasa de *Streptococcus mitis*, procedimiento de obtención y sus aplicaciones.

Sector de la técnica

Sector biotecnológico con aplicaciones en la industria agroalimentaria, al análisis de carbohidratos y a la biosíntesis de oligosacáridos, y más concretamente tecnología enzimática aplicada a los productos lácteos.

Estado de la técnica

La β -D-galactosidasa (EC 3.2.1.23) (en lo sucesivo β -galactosidasa), también llamada lactasa, tiene como función primaria la hidrólisis de la lactosa en D-galactosa y D-glucosa. Por ello, la aplicación fundamental de las β -D-galactosidasas se circunscribe por lo general al ámbito de los productos y subproductos lácteos [Pivarnik, L.F.; Senecal, A.G. y Rand, A.G. 1995. "Hydrolytic and transgalactosyl activities of commercial β -galactosidase (lactase) in food processing". Adv. Food Nutrit. Res. 38, 1-102]. Además, esta enzima posee actividad transgalactosilasa y se utiliza para la síntesis de galactosil-oligosacáridos, compuestos con un interés creciente en el área agroalimentaria y farmacéutica.

Como alternativa no enzimática a la hidrólisis con β -galactosidasas se puede utilizar la hidrólisis química, pero produce efectos no deseables (p. ej.: pérdida de nutrientes, defectos organolépticos, etc.) [Gekas, V. y López-Leiva, M. 1985. "Hydrolysis of lactose: A literature review". Process. Biochem. 20, 1-12].

Las β -galactosidasas se emplean en la industria agroalimentaria para reducir el contenido en lactosa de productos lácteos y derivados, lo que tiene un interés muy variado. En primer lugar, el problema más complejo sería hacer accesibles estos alimentos a los afectados de hipolactasia, que constituyen el 70% de la población mundial, para lo que necesitaremos hidrolizar el 100% de la lactosa de la leche [Savaiano, D.A. y Kotz, C. 1988. "Recent advances in the management of lactose intolerance". Contemp. Nutr. 13,10; Wolin, M.J. 1981. "Fermentation in the rumen and human large intestine". Science 213, 1463-1468; Phillips, M.C. y Briggs, G.M. 1975. "Milk and its role in the American diet". J. Dairy Sci. 58, 1751-1763; Birge, S.J.; Keutmann, H.T.; Cuatrecasas, P. y Whedon, G.D. 1963. "Osteoporosis, intestinal lactase deficiency and low dietary calcium intake". N. Engl. J. Med. 276, 445-448].

En las demás utilizaciones, la exigencia de hidrólisis totales puede estar disminuida. Por ejemplo, el uso de β -galactosidasas para revalorizar los sueros de lechería mediante su transformación en jarabes de glucosa-galactosa [Mahoney, R.R. 1985. "Modification of lactose and lactose-containing dairy products with β -galactosidase". En "Developments in Dairy Chemistry: Lactose and minor constituents". Fox, F. (Ed), pp.69-108. Elsevier, Nueva York; Short, J.L. 1975. "Prospects for the utilization of deproteinized whey in New Zealand-A review. N.Z.J. Dairy Sci. Technol. 13,181-194], evitando lo que -por otra parte- sería un grave problema medioambiental, debido a la alta demanda bioquímica de oxígeno de la lactosa de los mencionados sueros, y dado que sólo se procesa la mitad del que se produce vertiéndose el resto a los cauces fluviales [Pivarnik, L.F.; Senecal, A.G. y Rand, A.G. 1995. "Hydrolytic and transgalactosyl activities of commercial β -galactosidase (lactase) in food processing". Adv. Food Nutrit. Res. 38, 1-102] (para hacernos una idea del problema, 1 Kg de queso requiere, como media, 10 L de leche).

Por otro lado, leches con la lactosa hidrolizada son mejores sustratos para la fermentación, de forma que este proceso tiene interés para acelerar la producción de derivados fermentados de la leche (quesos, yogures...). También es interesante considerar que la lactosa tiene una solubilidad reducida cuando se la compara con la de la galactosa y glucosa, con lo que su hidrólisis evita problemas de aparición de cristales de lactosa en leches condensadas, helados, etc, además de añadir un sabor dulce al alimento.

Otra aplicación no hidrolítica sino transglicosílica, sería en la industria alimentaria y farmacéutica: síntesis de galactosil-oligosacáridos por transglicosilación [Zárate, S. y López-Leiva, M.H. 1990. "Oligosaccharide formation during enzymatic lactose hydrolysis: A literature review". J. Food Prot. 53, 262-268], pudiendo emplearse con fines de interés alimentario [Pivarnik, L.F.; Senecal, A.G. y Rand, A.G. 1995. "Hydrolytic and transgalactosyl activities of commercial β -galactosidase (lactase) in food processing". Adv. Food Nutrit. Res. 38, 1-102] y farmacéutico [Nilsson K.G.I. 1988 "Enzymatic synthesis of oligosaccharides" Trends Biotechnol, 6, 256-264].

Una propiedad importante que ha recibido poca atención en la literatura es el nivel de pureza de las preparaciones comerciales de β -galactosidasas, especialmente en lo relacionado a la presencia de otras enzimas, como las proteasas. Estos posibles contaminantes pueden tener un impacto severo en la estabilidad de la enzima, provocando cambios indeseables en los productos lácteos durante su almacenamiento. La elevada afinidad del dominio de unión a colina por este aminoalcohol o sus análogos estructurales tales como el dietilaminoetanol (DEAE) (J.M. Sanz, R. López, J.L. García "Structural requirements of choline derivatives for "conversión" of pneumococcal amidase A new single-step procedure for purification of this autolysin" FEBS Letters 232 (1988) 308-312) permite aumentar la pureza de la β -galactosidasa recombinante de *Streptococcus mitis* mediante cromatografía de afinidad de DEAE-celulosa (A. Vian, A.V. Carrascosa, J.L. García, E. Cortés. "Structure of the β -galactosidase gene from *Thermus* sp T2: Expression in *Escherichia coli* and purification in a single step of an active fusión protein". Applied and Environmental Microbiology 64 (1998) 2187-2191).

Teniendo en cuenta las ventajas que el dominio de unión a colina ofrece para la purificación de enzimas se ha reportado previamente la fusión de diversas β -galactosidasas a dominios de unión a colina:

- β -galactosidasa de *Escherichia coli* fusionada al dominio de unión a colina de N-acetilmuramoyl-L-alanina amidasa (C-LYTA) de *Streptococcus pneumoniae* (J. Madoz, B.A. Kuznetsov, F.J. Medrano, J.L. García, V.M. Fernández "Functionalization of Gold Surfaces for Specific and Reversible Attachment of a Fused β -Galactosidase and Choline-Receptor Protein J. Am. Chem. Soc. 119 (1997) 1043-1051).
- β -galactosidasa de *E. coli* con el dominio de unión a colina de la amidasa autolítica de neumococo, LytA, fusionada a su región N-terminal (J.M. Sánchez-Puelles, J.M. Sanz, J.L. García, E. García "Immobilization and single-step purification of fusion proteins using DEAE-cellulose" Eur. J. Biochem. 203 (1992) 153-159),
- β -galactosidasa termoestable de *Thermus sp.* Strain T2 fusionada al dominio de unión a colina de la principal autolisina de neumococo (A. Vián, A.V. Carrascosa, J.L. García, E. Cortés. "Structure of the β -galactosidase gene from *Thermus sp* T2: Expression in *Escherichia coli* and purification in a single step of an active fusion protein" Applied and Environmental Microbiology 64 (1998) 2187-2191).
- Patente española nº 9701759 (7 de Agosto de 1997): "Un procedimiento para producir β -galactosidasa de *Thermus sp.* (Cepa T2) en células hospedantes, y purificarla en un sólo paso cromatográfico". Inventores: A. Vián; A.V. Carrascosa; J.L. García y E. Cortés.

Descripción

La presente invención se basa en que los inventores han identificado y aislado una secuencia de nucleótidos novedosa correspondiente a la β -galactosidasa de *Streptococcus mitis*. Posteriormente, han creado dos métodos de expresión y purificación de β -galactosidasas modificadas: i) método de expresión y purificación de β -galactosidasa sin péptido señal y ii) método de expresión y purificación de β -galactosidasa con polí-histidinas.

La nueva proteína β -galactosidasa de *S. mitis* es una proteína consistente en 2.411 aminoácidos con un peso molecular aproximado de 268 kDa, presenta 5 motivos repetidos de unión a colina. Estas repeticiones son un rasgo característico de las proteínas de unión a colina de *S. pneumoniae*, lo que permite su purificación de manera sencilla a través de una columna cromatográfica de DEAE-celulosa y su empleo para diferentes aplicaciones.

Más concretamente, se ha aislado la secuencia de nucleótidos (SEQ ID NO1) que corresponde a un gen estructural de *S. mitis* NCTC (226)^T que codifica una β -galactosidasa (EC 3.2.1.23) (localizada entre las posiciones 64190 y 71425). Se facilita la secuencia de aminoácidos (SEQ ID NO2) deducida de la secuencia de nucleótidos. La eliminación de los nucleótidos correspondientes al péptido señal de la β -galactosidasa en la secuencia de nucleótidos SEQ ID NO1 origina la nueva secuencia de nucleótidos SEQ ID NO3, correspondiente a la β -galactosidasa sin péptido señal. La secuencia SEQ ID NO4 es la secuencia de aminoácidos codificada por la secuencia de nucleótidos SEQ ID NO3.

Las secuencias de nucleótidos correspondientes a la β -galactosidasa con el péptido señal (SEQ ID NO1) y sin el péptido señal (SEQ ID NO3) se insertaron en el plásmido pUC19 para la creación de los plásmidos pBSF01 y pBSF02 que expresan, respectivamente, la β -galactosidasa con y sin péptido señal de *S. mitis* en un hospedador heterólogo. El plásmido pUC19 es comercial, tiene la capacidad de producir un alto número de copias y está compuesto por 2.686 pares de bases. Además, tiene una zona que confiere resistencia al antibiótico ampicilina, y otra zona que contiene el gen del regulador de la expresión de Lac Z.

El hospedador heterólogo utilizado es la cepa MC4100, de la especie *E. coli*, que carece de actividad β -galactosidasa por llevar una delección completa del operón de la lactosa, obteniéndose como resultado final la cepa *E. coli* MC4100 (pBSF01 o pBSF02). De estas dos cepas, una de ellas, *E. coli* MC4100 (pBSF02) ha sido depositada en la Colección Española de Cultivos Tipo (CECT) con el nº de depósito 7433.

En el proceso de purificación de la β -galactosidasa sin péptido señal se utilizan columnas de afinidad de DEAE-celulosa, aprovechando la ventaja de disponer de una enzima con un módulo de unión a colina de forma natural. Con objeto de obtener un producto lo más purificado posible, y teniendo en cuenta el elevado peso molecular de la proteína recombinante, se empleó una columna cromatográfica preparativa de exclusión por tamaño.

En otro aspecto de la invención, los inventores han creado una β -galactosidasa en la que se han introducido seis restos de histidina en el extremo N-terminal de la proteína β -galactosidasa sin péptido señal, que denominaremos IMAC/ β -galactosidasa en referencia al proceso cromatográfico de purificación (ver más adelante), cuya secuencia de nucleótidos es la SEQ ID NO5, que se corresponde con la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO6. Esta proteína modificada se puede purificar por cromatografía de afinidad a iones metálicos inmovilizados (IMAC, del inglés *immobilized metal ion chromatography*), consiguiendo una mejora en el rendimiento del proceso de purificación respecto al proceso de purificación de la β -galactosidasa sin péptido señal comentados previamente.

Los inventores insertaron esta secuencia SEQ ID NO5 en el plásmido pBSF02, obteniéndose como resultando el plásmido pHGM02. El hospedador heterólogo utilizado en esta ocasión fue nuevamente la cepa *E. coli* MC4100.

ES 2 352 704 A1

Dicho hospedador se transformó con el plásmido pHGM02, obteniéndose como resultado final la cepa *E. coli* MC4100 (pHGM02). Esta cepa ha sido depositada en la CECT con el nº de depósito 7434, y produce la proteína IMAC/ β -galactosidasa con poli-histidinas (SEQ ID NO6).

La producción y purificación de la proteína IMAC/ β -galactosidasa se realizó mediante la obtención de extractos enriquecidos en la proteína siguiendo un procedimiento análogo al descrito previamente para la β -galactosidasa sin péptido señal. La purificación se realizó utilizando soportes cromatográficos IMAC comerciales.

A diferencia de lo que ocurre generalmente con otras β -galactosidasas, la actividad enzimática de las proteínas recombinantes descritas no se inhibe en presencia de elevadas concentraciones de glucosa, lo que hace que estas enzimas encuentren aplicación principalmente en el sector agroalimentario-sanitario, para la hidrólisis de β -galactósidos de mala digestibilidad presentes en diversos alimentos de gran consumo.

La enzima β -galactosidasa sin péptido señal, purificada en columnas cromatográficas de DEAE-celulosa y Sephacryl 300, presenta una actividad específica de 2.209 ó 956 U/mg en condiciones estándar (30°C, 4 min de hidrólisis) cuando se usa ONPG o lactosa, respectivamente, como sustrato y conserva el 100% de su actividad ONPGasa inicial después de mantenerla 55 días a temperatura ambiente (sin estabilizadores).

Por lo tanto, un aspecto de la invención lo constituye una secuencia de nucleótidos (en adelante secuencia de nucleótidos de la invención) de la β -galactosidasa que comprende una de las secuencias pertenecientes al siguiente grupo:

- a) una secuencia de nucleótidos constituida por la secuencia de nucleótidos de la β -galactosidasa (SEQ ID NO1),
- b) una secuencia de nucleótidos análoga a la secuencia de a),
- c) un fragmento de una cualquiera de las secuencias de a) y b).
- d) una secuencia de nucleótidos análoga a la secuencia de a), b) y c).

Tal como se utiliza en la presente invención el término “secuencia de nucleótidos” es una secuencia de ADN, ADNc o ARNm.

Un aspecto más particular de la invención lo constituye la secuencia de nucleótidos de la β -galactosidasa SEQ ID NO1.

Otro aspecto más particular de la invención lo constituye un fragmento de la secuencia de nucleótidos de la β -galactosidasa SEQ ID NO1 en la que el fragmento es la β -galactosidasa sin péptido señal SEQ ID NO3.

Otro aspecto más particular de la invención lo constituye una secuencia de nucleótidos SEQ ID NO5 que comprende la secuencia de nucleótidos SEQ ID NO3 y una secuencia de nucleótidos codificante de seis histidinas en el extremo N-terminal de la SEQ ID NO3.

En el sentido utilizado en esta descripción, el término “análoga” pretende incluir a cualquier secuencia de nucleótidos que pueda ser aislada o construida en base a la secuencia de nucleótidos mostrada en la SEQ. ID NO1, SEQ ID NO3 o SEQ ID NO5 por ejemplo, mediante la introducción de sustituciones de nucleótidos conservativas o no conservativas, incluyendo la inserción de uno o más nucleótidos, la adición de uno o más nucleótidos en cualquiera de los extremos de la molécula o la delección de uno o más nucleótidos en cualquier extremo o en el interior de la secuencia.

En general, una secuencia de nucleótidos análoga es sustancialmente homologa a la secuencia de nucleótidos identificada como la SEQ ID NO1 o SEQ ID NO3 o SEQ ID NO5. En el sentido utilizado en esta descripción, la expresión “sustancialmente homologa” significa que las secuencias de nucleótidos en cuestión tienen un grado de identidad, a nivel de aminoácidos, de, al menos, un 60%, preferentemente de, al menos un 85%, o más preferentemente de, al menos, un 95%.

Una realización particular de la invención lo constituye una construcción genética (en adelante construcción genética de la invención) que comprende la secuencia de nucleótidos de la β -galactosidasa SEQ ID NO1, SEQ ID NO3 o SEQ ID NO5.

Esta construcción genética de la invención, también puede comprender, en caso necesario y para permitir un mejor aislamiento, detección o secreción al exterior de la célula del péptido de interés expresado, una secuencia de nucleótidos que codifica para un péptido susceptible de ser utilizado con fines de aislamiento, detección o secreción de dicho péptido. Por tanto, un objeto particular de la presente invención lo constituye una construcción genética de la invención que comprende cualquier otra secuencia de nucleótidos codificante de un péptido o secuencia peptídica que permita el aislamiento, la detección o la secreción al exterior de la célula del péptido expresado, por ejemplo, a título ilustrativo y sin que limite el alcance de la invención, una secuencia peptídica reconocible por un anticuerpo monoclonal (por

ejemplo, para su identificación, o cualquier otra que sirva para purificar la proteína de fusión resultante por cromatografía de inmunoafinidad: péptidos etiqueta tales como c-myc, HA, E-tag) (Using antibodies: a laboratory manual. Ed. Harlow and David Lañe (1999). Cold Spring Harbor Laboratory Press. New York. Capítulo: Tagging proteins. Pp. 347-377).

La construcción genética de la invención descrita previamente puede aislarse y obtenerse por un experto mediante el empleo de técnicas ampliamente conocidas en el estado de la técnica (Sambrook *et al.* "Molecular cloning, a Laboratory Manual 2nd ed., Cold Sping Harbor Laboratory Press, N.Y., 1989 vol 1-3). Dichas secuencias de nucleótidos pueden estar integradas en un vector de expresión génica que permite la regulación de la expresión de la misma en condiciones adecuadas en el interior de las células.

Por tanto, otro aspecto de la invención lo constituye un vector de expresión (en adelante vector de expresión de la invención) que comprende la secuencia de nucleótidos de la β -galactosidasa SEQ ID NO1, SEQ ID NO3 o SEQ ID NO5.

Un aspecto más particular de la invención lo constituye un vector de expresión de la invención constituido por el plásmido pBSF01, pBSF02 o pHGM02.

En general, un vector de expresión comprende, además de la construcción genética descrita en la invención, un promotor que dirige su transcripción (por ejemplo, pT7, plac, ptrc, ptac, pBAD, ret, etc.), al que está operativamente enlazado, y otras secuencias necesarias o apropiadas que controlan y regulan dicha transcripción y, en su caso, la traducción del producto de interés, por ejemplo, señales de inicio y terminación de transcripción (tlt2, etc.), señal de poliadenilación, origen de replicación, secuencias de unión a ribosomas (RBS), secuencias codificantes de reguladores transcripcionales, (enhancers), silenciadores transcripcionales (silencers), represores, etc. Ejemplos de vectores de expresión apropiados pueden seleccionarse de acuerdo con las condiciones y necesidades de cada caso concreto entre plásmidos de expresión, vectores virales (ADN o ARN), cósmidos, cromosomas artificiales, etc. que pueden contener, además, marcadores utilizables para seleccionar las células transfectadas o transformadas con el gen o genes de interés. La elección del vector dependerá de la célula huésped y del tipo de uso que se quiera realizar. Por tanto, según un modo de realización particular de la presente invención dicho vector es un plásmido o un vector viral. La obtención de dicho vector puede realizarse por métodos convencionales conocidos por los técnicos en la materia al igual que para la transformación de microorganismos y células eucariotas se pueden utilizar diferentes métodos ampliamente conocidas - transformación química, electroporación, microinyección, etc. - descritos en diversos manuales [Sambrook, J., Fritsch, E.F., and Maniatis, T. (1989). Molecular cloning: a laboratory manual, 2nd ed. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, N.Y.].

Otro aspecto particular de la invención lo constituye una secuencia de aminoácidos β -galactosidasa (en adelante secuencia de aminoácidos de (a invención) que comprende una de las secuencias de aminoácidos pertenecientes al siguiente grupo:

- a) una secuencia de aminoácidos constituida por la secuencia de aminoácidos de la β -galactosidasa de *S. mitis* (SEQ ID NO2),
- b) una secuencia de aminoácidos análoga a la secuencia a),
- c) un fragmento cualquiera de las secuencias de a) y b),
- d) una secuencia de aminoácidos que comprende una secuencia cualquiera de a), b) y c).

Un aspecto más particular de la invención lo constituye la secuencia de aminoácidos de la invención de la β -galactosidasa SEQ ID NO2.

Otro aspecto más particular de la invención lo constituye un fragmento de la secuencia de aminoácidos de la β -galactosidasa SEQ ID NO2 en la que el fragmento es la β -galactosidasa sin péptido señal SEQ ID NO4.

Otro aspecto más particular de la invención lo constituye una secuencia de aminoácidos SEQ ID NO6 que comprende la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO4 y una secuencia de seis histidinas en el extremo N-terminal de la SEQ ID NO4.

Otro aspecto de la invención lo constituye un uso de la secuencia de aminoácidos de la invención (SEQ ID NO2, SEQ ID NO4 o SEQ ID NO6) en la reducción del contenido de lactosa en alimentos o residuos de procesos alimentarios pertenecientes, a título ilustrativo y sin que limite el alcance de la invención, al siguiente grupo: productos lácteos y derivados, sueros de lechería.

Otro aspecto de la invención lo constituye una célula huésped, en adelante célula huésped de la invención, que comprende la construcción genética o el vector de expresión de la invención, preferentemente una célula procariota.

ES 2 352 704 A1

Una realización particular de la invención lo constituye una célula huésped de la invención constituida por una célula *E. coli*, preferentemente células *E. coli* MC4100.

Otra realización particular de la invención lo constituye una célula huésped de la invención constituida por células de la cepa *E. coli* con el número de depósito CECT 7433 o 7434.

Otro aspecto de la invención lo constituye el uso de la célula huésped de la invención en la reducción del contenido de lactosa en alimentos o residuos de procesos alimentarios pertenecientes, a título ilustrativo y sin que limite el alcance de la invención, al siguiente grupo: productos lácteos y derivados, sueros de lechería.

Otro aspecto de la invención lo constituye un procedimiento de obtención (en adelante procedimiento de obtención de la β -galactosidasa de la invención) de la secuencia de aminoácidos de la invención SEQ ID NO2 que comprende las siguientes etapas:

- a) obtención de una construcción genética que comprende la secuencia de nucleótidos SEQ ID NO1, y del vector de expresión que comprende esta construcción genética,
- b) transformación de una célula huésped, preferentemente de *E. coli*, en la que la construcción genética o el vector de expresión de a) bajo control de los promotores adecuados expresa la proteína codificada por la SEQ ID NO1, y purificación del extracto crudo de las células,
- c) inmovilización de la proteína en matrices de DEAE-celulosa mediante el paso del extracto crudo de b) a través de la matriz,
- d) disociación de la proteína de la matriz cromatográfica mediante lavado de la matriz con un medio que comprende colina, y, opcionalmente
- e) posterior purificación de la proteína mediante el paso del eluido de d) a través de una matriz cromatográfica de exclusión por tamaño.

Otro aspecto más particular de la invención lo constituye un procedimiento de obtención de β -galactosidasa de la invención en el que la secuencia de nucleótidos de a) es la secuencia de nucleótidos SEQ ID NO3.

Otro aspecto particular de la invención lo constituye un procedimiento de obtención de la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO6 caracterizado porque comprende las siguientes etapas:

- a) obtención de una construcción genética que comprende la secuencia de nucleótidos SEQ ID NO5, y del vector de expresión que comprende esta construcción genética,
- b) transformación de una célula huésped, preferentemente de *E. coli*, en la que la construcción genética o el vector de expresión de a) bajo control de los promotores adecuados expresa la proteína codificada por la SEQ ID NO5, y purificación del extracto crudo de las células,
- c) inmovilización de la proteína en matrices de cromatografía de afinidad a iones metálicos inmovilizados mediante el paso del extracto crudo de b) a través de la matriz,
- d) disociación de la proteína de la matriz cromatográfica mediante lavado de la matriz con un medio que comprende imidazol.

Ejemplos de realización

Ejemplo 1

Identificación de la secuencia de nucleótidos de la β -galactosidasa de *S. mitis*

La secuencia del genoma de la cepa tipo de *S. mitis* NCTC (226)^T se conoce sólo en fragmentos no ordenados (llamados *contigs*). El análisis *in silico* de las correspondientes fases de lectura abierta permitió deducir la existencia de, al menos, 14 proteínas de unión a colina. Una de ellas codificaba una proteína de 2411 aminoácidos, con un posible péptido señal, alta similitud con otras β -galactosidasas, y que presentaba 5 motivos repetidos de unión a colina. Estos resultados sugirieron que la proteína podría tratarse de una β -galactosidasa extracelular probablemente diseñada para realizar su función en la envuelta celular, y que poseería características diferentes y especiales con respecto a otras β -galactosidasas intracelulares.

Ejemplo 2

*Expresión de la proteína recombinante β -galactosidasa con y sin péptido señal*5 2.1.- Construcción de plásmidos para expresar la proteína β -galactosidasa de *S. mitis* en el hospedador *E. coli* MC4100 (Figura 1)

Los plásmidos construidos se denominan pBSF01 (con péptido señal) y pBSF02 (sin péptido señal) y para su realización se utilizaron técnicas de ADN recombinante convencionales [Sambrook, J., Fritsch, E.F. y Maniatis, T. 10 1989. Molecular Cloning. CSHL Press, Cold Spring Harbor, Nueva York].

En primer lugar se extrajo el ADN de *S. mitis*, y tras su purificación, se amplificó la secuencia adecuada mediante la técnica de PCR.

15 Para llevar a cabo la amplificación de la parte de ADN de interés, se eligieron unos oligonucleótidos cebadores para que la polimerasa actuara a partir de las posiciones deseadas. Se utilizaron 2 oligonucleótidos diferentes en el sentido 5'-3', uno incluyendo la parte del péptido señal, y el otro sin ella. Además, en los cebadores se incluyeron secuencias de restricción para posteriormente fragmentar el producto amplificado por los sitios adecuados y unirlo posteriormente al vector de expresión.

20 Se eligió introducir una secuencia de corte para *Xba*I en el cebador 5'-3' y *Eco*RV en el cebador 3'-5', puesto que no hay sitios de corte para estas enzimas de restricción en el gen. Además, se introdujo la secuencia que determina el sitio de unión del ribosoma (ribosome binding site, RBS), y codones STOP en las lecturas desfasadas de la secuencia de interés. Finalmente, también se introdujo el codón ATG, que codifica el aminoácido metionina, que indica el inicio del gen.

Después de purificar el producto de PCR obtenido con los oligonucleótidos mencionados con un kit de purificación se realizó la digestión con las enzimas de restricción *Xba*I y *Eco*RV.

30 Para construir los plásmidos recombinantes (pBSF01 y pBSF02) se partió del plásmido pUC19. El plásmido pUC19 se cortó con las enzimas de restricción adecuadas (*Xba*I y *Sma*I), para su posterior ligación al inserto del gen de la β -galactosidasa.

35 Los productos de la digestión del plásmido y del gen amplificado de la β -galactosidasa se purificaron en un gel de agarosa y con un kit de purificación de ADN.

40 Los productos purificados de la digestión del plásmido y del gen amplificado de β -galactosidasa se unieron covalentemente con ADN ligasa. Con la mezcla de ligación antedicha se transformaron células competentes de *E. coli* MC4100. El plásmido resultante, que se denominó pBSF02, hace que las células que lo portan sean resistentes a ampicilina, y es capaz de expresar actividad β -galactosidasa correspondiente al gen estructural de *S. mitis*, SEQ ID NO1.

45 De los varios clones ensayados se eligió el más productivo, que es el clon de *E. coli* MC4100 (pBSF02) depositado en la CECT con el n° de depósito 7433.

El plaqueo de las células competentes de *E. coli* MC4100 (pBSF02) se hizo en agar LB con ampicilina, X-Gal (5-Bromo-4-cloro-3-indolil- β -D-galactopiranosido) e IPTG (isopropil- β -D-1-tiogalactopiranosido), incubándose a 37°C. Se escogió una colonia azul.

50 Tal colonia se reaisló y se hizo una minipreparación de su ADN plasmídico. Tras comprobar que el patrón de restricción con diversas enzimas era el esperado, se hizo una verificación final mediante secuenciación.

55 2.2.- Producción de la proteína recombinante β -galactosidasa sin péptido señal

De las placas con las colonias azules del clon antes mencionado, se eligió una suficientemente aislada, que se inoculó en medio de cultivo LB con ampicilina (100 μ g/ml) y se cultivó toda la noche a 37°C con agitación a 250 rpm. Al día siguiente, un volumen adecuado del cultivo crecido se diluyó en medio LB con ampicilina (100 μ g/ml) e IPTG (1.0x10⁻⁴ M) y se dejó crecer durante toda la noche. Tras medir su densidad óptica a 600 nm, el cultivo se 60 centrifugó a 8000 rpm durante 10 minutos a 4°C. Las células de *E. coli* MC4100 (pBSF02) cosechadas por centrifugación y resuspendidas en un volumen menor del original de tampón fosfato sódico 20 mM (pH 6.9), como método de concentración, se ultrasonificaron para romperlas. Tras una centrifugación adicional, que separa restos celulares, se obtuvo un sobrenadante claro con elevada actividad β -galactosidasa.

65

Ejemplo 3

Purificación de la proteína recombinante β -galactosidasa sin péptido señal

Obtenido el extracto crudo se siguió su purificación, en una columna cromatográfica de afinidad de DEAE-celulosa [J.M. Sánchez-Puelles, J.M. Sanz, J.L. García, E. García. 1992 "Immobilization and single-step purification of fusion proteins using DEAE-cellulose" Eur. J. Biochem., 203, 153-159]. Después de cargar el extracto (~ 12.5 mg de proteína por mL de soporte empaquetado) se lavó con tampón fosfato 20 mM pH 6.9. A continuación se eluyó por la columna tampón salino (fosfato 20 mM, pH 6,9 con 1,5 M NaCl) y se recogieron las fracciones de interés con un colector, cuando se hizo pasar por la columna tampón con colina (fosfato 20 mM, pH 6,9, con 1,5 M NaCl y 2% colina).

Para comprobar la eficacia del proceso de purificación, se realizaron electroforesis en geles de poliacrilamida en presencia de SDS (7.5%) y ensayos de actividad β -galactosidasa y determinación de proteínas por el método de Bradford.

Para mejorar la pureza del producto final se utilizó una columna cromatográfica de afinidad por exclusión de tamaño. Tras equilibrar la columna (90x30 cm, Sephacryl-300) con tampón fosfato 20 mM pH 6.9, se cargó el extracto semipurificado y empleando la misma disolución reguladora y con ayuda de una bomba peristáltica (con un flujo de 0.2 mL/min) se recogieron las fracciones de interés. La enzima purificada se guardó a -20°C.

Experimentos de ultracentrifugación analítica demostraron que la enzima recombinante purificada era monomérica (en tampón fosfato 20 mM, pH 6.9, conteniendo 50 mM de NaCl, en ausencia y en presencia de 2% de colina).

Ejemplo 4

Expresión y purificación de la proteína recombinante con poli-histidinas (IMAC/ β -galactosidasa)

4.1.- Construcción de un plásmido para expresar la proteína β -galactosidasa de *S. mitis* con poli-histidinas (IMAC/ β -galactosidasa) (Figura 3)

El plásmido construido se denomina pHGM02 y para su construcción se emplearon protocolos convencionales, partiendo del plásmido pBSF02. Con el fin de introducir los 6 residuos de histidinas en la región N-terminal se realizó la amplificación de una región de 758 bp del plásmido recombinante pBSF02 con los oligonucleótidos adecuados. En estos oligonucleótidos se incluyeron secuencias de restricción para posteriormente fragmentar el producto amplificado por los sitios adecuados, para su posterior unión al vector de expresión.

Se ha elegido introducir una secuencia de corte para *Xba*I en un oligonucleótido y *Spe*I en el otro, puesto que estas enzimas cortan cohesivamente y en posición única el gen de la β -galactosidasa de *S. mitis* pero no el pUC19. Además, se introdujo la secuencia que determina el sitio de unión del ribosoma (ribosome binding site, RBS), y codones STOP en las lecturas desfasadas de la secuencia de interés. Finalmente, también se introdujo el codón ATG, que codifica el aminoácido metionina, que indica el inicio del gen.

El fragmento PCR obtenido se purificó y se ligó al vector de clonación pGEMT-Easy (Promega). La selección del plásmido portador del inserto y las posteriores manipulaciones para obtener el plásmido recombinante pHGM02 fueron similares a las explicadas en el ejemplo 2.1 y siguieron el esquema que se explica en Figura 3.

4.2.- Producción de la proteína recombinante IMAC/ β -galactosidasa

Para producir la proteína IMAC/ β -galactosidasa se siguió un procedimiento análogo al descrito para la producción de la β -galactosidasa sin péptido señal (ejemplo 2.2). Además, se realizaron estudios bioquímicos comparativos entre ambas proteínas, encontrándose resultados similares a nivel de expresión y características bioquímicas.

4.3.- Purificación de la proteína recombinante IMAC/ β -galactosidasa

En el proceso de purificación se utilizaron columnas IMAC, en cartuchos comerciales (BioRad) siguiendo el protocolo recomendado. La adsorción de la proteína al soporte se realizó a pH 6.9 y 25°C. Seguidamente se realizó la desorción de la proteína del soporte, usando concentraciones crecientes de imidazol (desde 5 hasta 250 mM), encontrando que a 200 mM eluía el 100% de la enzima de *S. mitis*.

Para comprobar la eficacia del proceso de purificación, se realizaron electroforesis en geles de poliacrilamida en presencia de SDS (7.5%) y ensayos de actividad β -galactosidasa y determinación de proteínas por el método de Bradford. La muestra correspondiente a la proteína purificada tras separación electroforética se muestra en la Figura 4.

Ejemplo 5

Caracterización de la actividad enzimática

5 Las actividades enzimáticas de las dos proteínas recombinantes purificadas, la β -galactosidasa sin péptido señal (codificada por el plásmido pBSF02) y la IMAC/ β -galactosidasa (codificada por el plásmido pHGM02), fueron similares en términos de actividad específica.

10 A continuación se presentan los resultados obtenidos a la actividad enzimática de la enzima β -galactosidasa sin péptido señal:

1. *Sustratos*: Hidroliza ONPG con una actividad específica de 2.209 unidades a pH 6,5 y a 30°C. Hidroliza lactosa con una actividad específica de 956 unidades. (Se refieren a las unidades definidas en el ejemplo 1).
- 15 2. *pH de la reacción*: El pH óptimo de la hidrólisis se sitúa entre el 5,5 y 6,5. Se detecta claramente actividad en un rango de pH de 5,5 a 7,5.
- 20 3. *Temperatura óptima*: se alcanzó el máximo de actividad entre 35-40°C a pH 7,0.
4. *Termoestabilidad*: La enzima soluble conserva el 79% de la actividad después de un calentamiento de 5 minutos a 40°C y pH 7,0, y pierde totalmente su actividad enzimática después de calentarla 5 min a 42,5°C y pH 7,0.
- 25 5. *Inhibición por productos de reacción*: En los ensayos con la enzima soluble a 30°C y pH 6,5, se conserva el 100% de la actividad de la enzima en presencia de 200 mM de glucosa. La galactosa, a una concentración de 10 mM, disminuye la actividad en un 64%.
- 30 6. *Conservación*. La enzima soluble se puede conservar a temperatura ambiente (sin estabilizadores) durante al menos 55 días, reteniendo el 100% de su actividad inicial.

Descripción de las figuras

35 Figura 1.- *Esquema del método seguido para construir los plásmidos que contienen el gen de la β -galactosidasa con y sin péptido señal del microorganismo *S. mitis**. Se representan sólo los aspectos más relevantes de los plásmidos. Para detalles, ver el texto (ejemplo 2). Sólo se indican los sitios de restricción y las estructuras más importantes para poder comprender mejor el esquema. La flecha gruesa representa el gen estructural que codifica la β -galactosidasa de *S. mitis*. Rectángulo negro: Péptido señal. PCR: Reacción en cadena de la polimerasa SMC: Sitio múltiple de clonación.

40 Figura 2.- *Secuencias de oligonucleótidos utilizados en los experimentos de PCR*. A) Oligonucleótido utilizado para la construcción del plásmido pBSF01 (1 en Figura 1). B) Oligonucleótido utilizado para la construcción del plásmido pBSF02 (2 en Figura 1). C) Oligonucleótido utilizado para la construcción de los plásmidos pBSF01 y pBSF02 (3 en Figura 1). D) Oligonucleótido utilizado para la construcción del plásmido pHGM02 (4 en Figura 3). E) Oligonucleótido utilizado para la construcción del plásmido pHGM02 (5 en Figura 3).

50 Figura 3.- *Esquema del método seguido para construir un plásmido que contine el gen de la IMAC/ β -galactosidasa del microorganismo *S. mitis**. Se representan sólo los genes más relevantes de los plásmidos. Para detalles, ver el texto (ejemplo 4). Sólo se indican los sitios de restricción y las estructuras más importantes para poder comprender mejor el esquema. La flecha gruesa representa el gen estructural que codifica la β -galactosidasa de *S. mitis*. PCR: Reacción en cadena de la polimerasa.

55 Figura 4.- *Análisis de proteínas por electroforesis en geles de poliacrilamida en condiciones desnaturizantes al 7,5% (SDS-PAGE)*. Calle x, proteínas marcadoras de peso molecular, indicadas en el margen izquierdo, en kDa. Calle y, β -galactosidasa sin péptido señal de *S. mitis* purificada por DEAE-celulosa y Sephacryl S-300. Calle z, IMAC/ β -galactosidasa de *S. mitis* purificada por IMAC.

REIVINDICACIONES

1. Secuencia de nucleótidos **caracterizada** porque comprende una de las secuencias pertenecientes al siguiente grupo:
 - a) una secuencia de nucleótidos constituida por la secuencia de nucleótidos de la β -galactosidasa SEQ ID NO1,
 - b) una secuencia de nucleótidos análoga a la secuencia de a),
 - c) un fragmento de una cualquiera de las secuencias de a) y b).
 - d) una secuencia de nucleótidos análoga a la secuencia de a), b) y c).
2. Secuencia de nucleótidos según la reivindicación 1 **caracterizada** porque es la secuencia de la β -galactosidasa SEQ ID NO1.
3. Secuencia de nucleótidos según reivindicación 1 **caracterizada** porque la secuencia de nucleótidos de c) es un fragmento de la β -galactosidasa sin péptido señal (SEQ ID NO3).
4. Secuencia de nucleótidos según reivindicación 1 **caracterizada** porque es la secuencia SEQ ID NO5, que comprende la secuencia de nucleótidos SEQ ID NO3 y una secuencia de nucleótidos codificante de seis histidinas en el extremo N-terminal de la SEQ ID NO3.
5. Secuencia de nucleótidos según reivindicaciones 1 a 4 **caracterizada** porque es una secuencia de ADN, ADNc o ARNm.
6. Construcción genética **caracterizada** porque comprende una secuencia de nucleótidos según reivindicaciones 1 a 5.
7. Vector de expresión **caracterizado** porque comprende una secuencia de nucleótidos según reivindicaciones 1 a 6.
8. Vector de expresión según la reivindicación 7 **caracterizado** porque el vector de expresión es el plásmido pBSF01, pBSF02 o pHGM02.
9. Secuencia de aminoácidos **caracterizada** porque comprende una de las secuencias de aminoácidos pertenecientes al siguiente grupo:
 - a) una secuencia de aminoácidos constituida por la secuencia de aminoácidos de la β -galactosidasa de *S. mitis* (SEQ ID NO2),
 - b) una secuencia de aminoácidos análoga a la secuencia a),
 - c) un fragmento cualquiera de las secuencias de a) y b),
 - d) una secuencia de aminoácidos que comprende una secuencia cualquiera de a), b) y c).
10. Secuencia de aminoácidos según reivindicación 9 **caracterizada** porque es la secuencia de la β -galactosidasa SEQ ID NO2.
11. Secuencia de aminoácidos según reivindicación 9 **caracterizada** porque la secuencia de aminoácidos de c) es un fragmento de la β -galactosidasa sin péptido señal (SEQ ID NO4).
12. Secuencia de aminoácidos según reivindicación 9 **caracterizada** porque es la secuencia de la β -galactosidasa modificada SEQ ID NO6, que comprende la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO4 y una secuencia de seis histidinas en el extremo N-terminal de la SEQ ID NO4.
13. Uso de la secuencia de aminoácidos según reivindicaciones 9 a 12 en la reducción del contenido de lactosa en alimentos o residuos de procesos alimentarios pertenecientes, a título ilustrativo y sin que limite el alcance de la invención, al siguiente grupo: productos lácteos y derivados, sueros de leche.
14. Célula huésped, preferentemente procariota, **caracterizada** porque comprende una construcción genética según reivindicaciones 1 a 6.

15. Célula huésped, preferentemente procariota, **caracterizada** porque comprende el vector de expresión según reivindicaciones 7 a 8.

16. Célula huésped según reivindicaciones 14 y 15 **caracterizada** porque es una célula de *Escherichia coli*, preferentemente células *E. coli* MC4100.

17. Célula huésped según reivindicación 16 **caracterizada** porque es una célula de la cepa *E. coli* con el número de depósito CECT 7433 o *E. coli* con el número de depósito CECT 7434.

18. Uso de la célula huésped según reivindicaciones 14 a 17 en la reducción del contenido de lactosa en alimentos o residuos de procesos alimentarios pertenecientes, a título ilustrativo y sin que limite el alcance de la invención, al siguiente grupo: productos lácteos y derivados, sueros de lechería.

19. Procedimiento de obtención de la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO2 **caracterizado** porque comprende las siguientes etapas:

- a) obtención de una construcción genética que comprende la secuencia de nucleótidos SEQ ID NO1, y del vector de expresión que comprende esta construcción genética,
- b) transformación de una célula huésped, preferentemente de *E. coli*, en la que la construcción genética o el vector de expresión de a) bajo control de los promotores adecuados expresa la proteína codificada por la SEQ ID NO1, y purificación del extracto crudo de las células,
- c) inmovilización de la proteína en matrices de DEAE-celulosa mediante el paso del extracto crudo de b) a través de la matriz,
- d) disociación de la proteína de la matriz cromatográfica mediante lavado de la matriz con un medio que comprende colina,
- y, opcionalmente
- e) posterior purificación de la proteína mediante el paso del eluido de d) a través de una matriz cromatográfica de exclusión por tamaño.

20. Procedimiento de obtención según reivindicación 19 **caracterizado** porque la secuencia de nucleótidos de a) es la secuencia de nucleótidos SEQ ID NO3.

21. Procedimiento de obtención de la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO6 **caracterizado** porque comprende las siguientes etapas:

- a) obtención de una construcción genética que comprende la secuencia de nucleótidos SEQ ID NO5, y del vector de expresión que comprende esta construcción genética,
- b) transformación de una célula huésped, preferentemente de *E. coli*, en la que la construcción genética o el vector de expresión de a) bajo control de los promotores adecuados expresa la proteína codificada por la SEQ ID NO5, y purificación del extracto crudo de las células,
- c) inmovilización de la proteína en matrices de cromatografía de afinidad a iones metálicos inmovilizados mediante el paso del extracto crudo de b) a través de la matriz,
- d) disociación de la proteína de la matriz cromatográfica mediante lavado de la matriz con un medio que comprende imidazol.

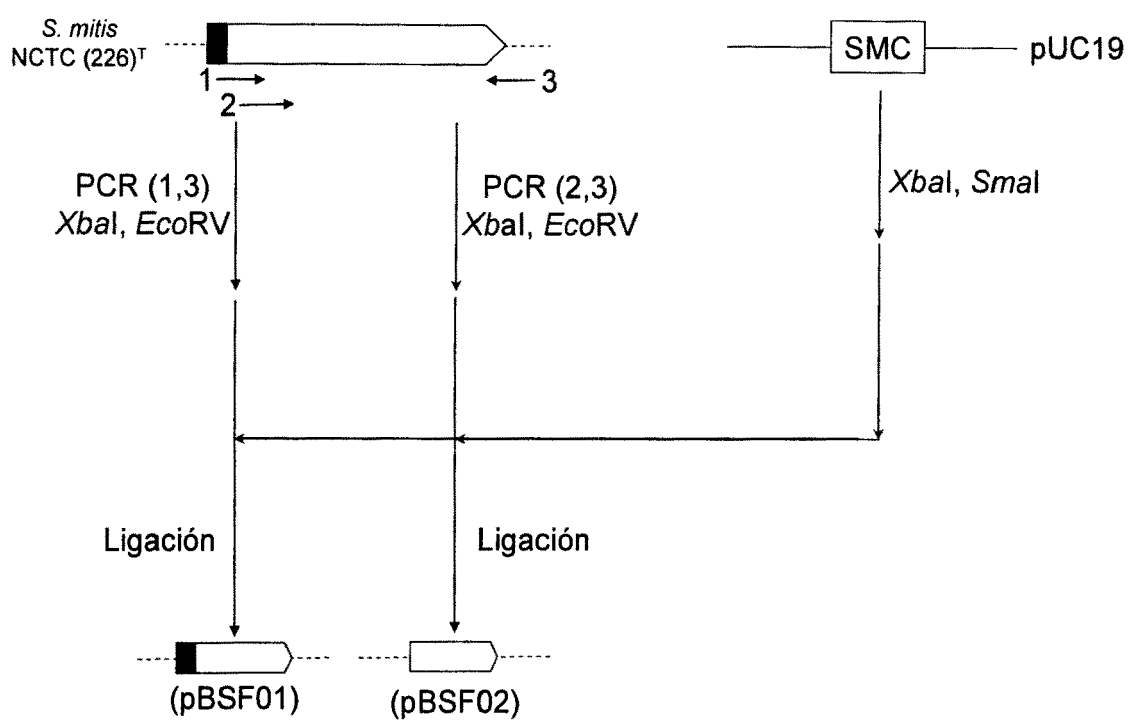
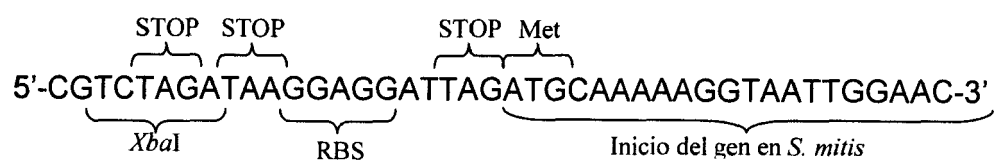
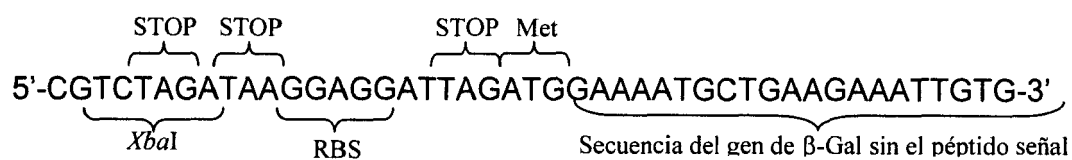


FIG. 1

A)



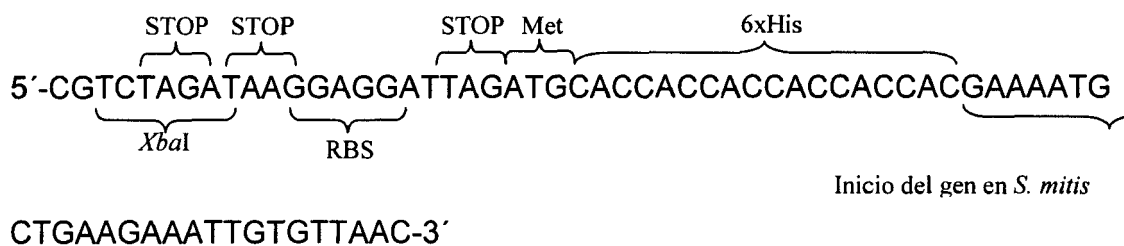
B)



C)



D)



E)

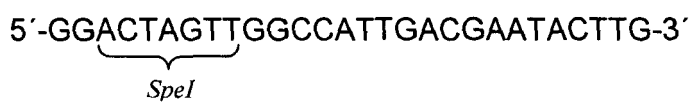


FIG. 2

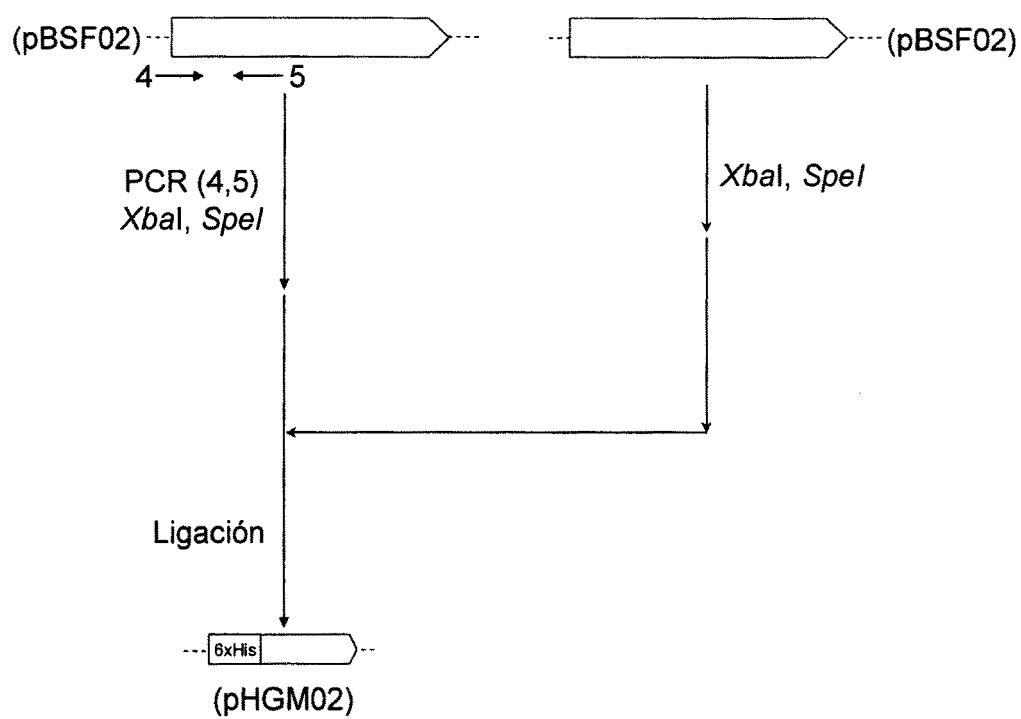


FIG. 3

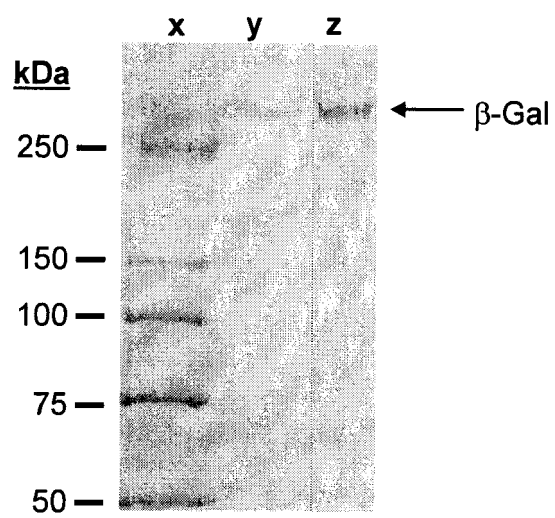


FIG. 4

ES 2 352 704 A1

LISTA DE SECUENCIAS

- 5 <110> CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
- <120> SECUENCIAS DE NUCLEÓTIDOS Y PROTEÍNAS DE LA BETA-GALACTOSIDASA DE *STREPTOCOC-*
CUS MITIS, PROCEDIMIENTO DE OBTENCIÓN Y SUS APLICACIONES
- 10 <130> beta-gal
- <160> 6
- 15 <170> PatentIn version 3.3
- <210> 1
- <211> 7266
- 20 <212> DNA
- <213> *Streptococcus mitis*
- <220>
- 25 <221> CDS
- <222> (31)..(7263)
- <223> beta-galactosidasa
- 30 <220>
- <221> misc_feature
- <222> (6898)..(6957)
- 35 <223> Motivo de unión a colina 1
- <220>
- <221> misc_feature
- 40 <222> (6958)..(7017)
- <223> Motivo de unión a colina 2
- <220>
- 45 <221> misc_feature
- <222> (7018)..(7083)
- <223> Motivo de unión a colina 3
- 50 <220>
- <221> misc_feature
- <222> (7084)..(7149)
- 55 <223> Motivo de unión a colina 4
- <220>
- <221> misc_feature
- 60 <222> (7150)..(7215)
- <223> Motivo de unión a colina 5
- 65

ES 2 352 704 A1

<400> 1

aatgaaagcg gttaccaaaa ggaggattac atg caa aaa ggt aat tgg aac aaa
54

Met Gln Lys Gly Asn Trp Asn Lys
1 5

aaa aga gtg tat agt att cga aaa ttt tca gtc ggt gct tgc tcg gtg
102
10 Lys Arg Val Tyr Ser Ile Arg Lys Phe Ser Val Gly Ala Cys Ser Val
10 15 20

ctt ata ggg aca tgt gct cta tta tta ggg gca ggc gtt agt cta tct
150
15 Leu Ile Gly Thr Cys Ala Leu Leu Leu Gly Ala Gly Val Ser Leu Ser
25 30 35 40

tct tcg gta tat gcc aac gaa aat gct gaa gaa att gtg tta aca aat
198
20 Ser Ser Val Tyr Ala Asn Glu Asn Ala Glu Glu Ile Val Leu Thr Asn
45 50 55

agg act gag cac cag tct gaa aac ctg aaa act act gga ctc tca agt
246
25 Arg Thr Glu His Gln Ser Glu Asn Leu Lys Thr Thr Gly Leu Ser Ser
60 65 70

gaa cat aaa gct gaa ggt gtt acg act gaa aaa gca agt gag caa cct
294
30 Glu His Lys Ala Glu Gly Val Thr Thr Glu Lys Ala Ser Glu Gln Pro
75 80 85

gtt aaa gct gaa aat gta tct cta aag gaa aat gcg gat ggt agt gat
342
40 Val Lys Ala Glu Asn Val Ser Leu Lys Glu Asn Ala Asp Gly Ser Asp
90 95 100

gca gta gta aaa cct cac gca gat caa cct tta gtt tca gtt gcc aat
390
45 Ala Val Val Lys Pro His Ala Asp Gln Pro Leu Val Ser Val Ala Asn
105 110 115 120

aat caa tca gtt cct tta gaa gaa ggt aag gct gaa gtc gaa aac aaa
438
50 Asn Gln Ser Val Pro Leu Glu Glu Gly Lys Ala Glu Val Glu Asn Lys
125 130 135

aca gaa gaa agg aac aag cct gag gat aga aat aag ctt gaa gaa aca
486
55 Thr Glu Glu Arg Asn Lys Pro Glu Asp Arg Asn Lys Leu Glu Glu Thr
140 145 150

aat aag act gag gta acg gat aaa tct gaa gat aaa aat aaa tct gaa
534
60 Asn Lys Thr Glu Val Thr Asp Lys Ser Glu Asp Lys Asn Lys Ser Glu
155 160 165

gaa aca aat aaa gca gaa tca caa gat cgt tct gtt tca aaa gat aag
582
65 Glu Thr Asn Lys Ala Glu Ser Gln Asp Arg Ser Val Ser Lys Asp Lys

ES 2 352 704 A1

| | 170 | 175 | 180 |
|----|--|---------|---------|
| 5 | caa gaa ttc aaa tct gct acg aat gaa gta gtt gat aag tta att gaa 630 Gln Glu Phe Lys Ser Ala Thr Asn Glu Val Val Asp Lys Leu Ile Glu | | |
| | 185 | 190 | 195 200 |
| 10 | gat aga aac att tcc ttc aac cag aat tgg cac ttt aaa cta aat gcc 678 Asp Arg Asn Ile Ser Phe Asn Gln Asn Trp His Phe Lys Leu Asn Ala | | |
| 15 | | 205 | 210 215 |
| 20 | aat gca aag gaa gct gta aaa cca gac gca gat att tct tca tgg aaa 726 Asn Ala Lys Glu Ala Val Lys Pro Asp Ala Asp Ile Ser Ser Trp Lys | | |
| | 220 | 225 | 230 |
| 25 | aaa atg gat ctt cct cat gac tgg agt att cat ttt gat ttt gac cat 774 Lys Met Asp Leu Pro His Asp Trp Ser Ile His Phe Asp Phe Asp His | | |
| 30 | | 235 240 | 245 |
| 35 | gat tca cca gct caa aac gaa ggc ggt caa ttg aat ggt gga gat ggc 822 Asp Ser Pro Ala Gln Asn Glu Gly Gly Gln Leu Asn Gly Gly Asp Gly | | |
| | 250 | 255 | 260 |
| 40 | tgg tat cgg aaa acc ttt aag tta gat gaa aag gac ttg aat aaa gat 870 Trp Tyr Arg Lys Thr Phe Lys Leu Asp Glu Lys Asp Leu Asn Lys Asp | | |
| | 265 | 270 | 275 280 |
| 45 | gtt cgt gta acc ttt gat ggt gtt tac atg gat tca caa gta ttc gtc 918 Val Arg Val Thr Phe Asp Gly Val Tyr Met Asp Ser Gln Val Phe Val | | |
| 50 | | 285 290 | 295 |
| 55 | aat ggc caa cta gtt ggt cac tat cca aat ggt tac aat caa ttt tca 966 Asn Gly Gln Leu Val Gly His Tyr Pro Asn Gly Tyr Asn Gln Phe Ser | | |
| | 300 | 305 | 310 |
| 60 | tat gac att agt aac tat ctc cat aaa gat ggg cga gaa aat gtc att 1014 Tyr Asp Ile Ser Asn Tyr Leu His Lys Asp Gly Arg Glu Asn Val Ile | | |
| 65 | 315 | 320 | 325 |

ES 2 352 704 A1

tct gtt cat gca gtt aat aag caa cca agt agt aga tgg tat tca gga
 1062
 Ser Val His Ala Val Asn Lys Gln Pro Ser Ser Arg Trp Tyr Ser Gly
 5 330 335 340

agt ggt atc tat cga gac gta tca ttg cag gta aca gac aag att cat
 1110
 Ser Gly Ile Tyr Arg Asp Val Ser Leu Gln Val Thr Asp Lys Ile His
 10 345 350 355 360

gtt gaa aag aat ggg aca act att cta act cca aaa cta gaa agt caa
 1158
 Val Glu Lys Asn Gly Thr Thr Ile Leu Thr Pro Lys Leu Glu Ser Gln
 15 365 370 375

caa gga gga aaa gtt gaa acc caa gta agc agt aaa att gtt aat aca
 1206
 Gln Gly Gly Lys Val Glu Thr Gln Val Ser Ser Lys Ile Val Asn Thr
 20 380 385 390

gat aat aaa gac cat gaa att gta gca gag tat caa att ttt gaa cga
 1254
 Asp Asn Lys Asp His Glu Ile Val Ala Glu Tyr Gln Ile Phe Glu Arg
 25 395 400 405

ggt ggt aag gca gtt aca gaa ctt gtt cga act gag agt aaa act cta
 1302
 Gly Gly Lys Ala Val Thr Glu Leu Val Arg Thr Glu Ser Lys Thr Leu
 30 410 415 420

aaa gct aag gaa acc att cat ttg gat tca gca tta gag gtt gaa aaa
 1350
 Lys Ala Lys Glu Thr Ile His Leu Asp Ser Ala Leu Glu Val Glu Lys
 35 425 430 435 440

cca aaa ttg tgg aca gtg tca tct gac aaa cct gct tta tat gag atg
 1398
 Pro Lys Leu Trp Thr Val Ser Ser Asp Lys Pro Ala Leu Tyr Glu Met
 40 445 450 455

gta act cgt gtt tac aaa gat ggt cag ctt gta gat gca aag aaa gat
 1446
 Val Thr Arg Val Tyr Lys Asp Gly Gln Leu Val Asp Ala Lys Lys Asp
 45 460 465 470

tta ttt ggt tat cgc tac tat aac tgg act cca gac caa ggg ttc tct
 1494
 50 55 60 65

ES 2 352 704 A1

Leu Phe Gly Tyr Arg Tyr Tyr Asn Trp Thr Pro Asp Gln Gly Phe Ser
 475 480 485
 5
 tta aat ggt gaa cac atc aag ttc cac ggt gtt tca ttg cac cat gat
 1542
 Leu Asn Gly Glu His Ile Lys Phe His Gly Val Ser Leu His His Asp
 10 490 495 500
 cat gga gcg cta gga gca gaa gaa aac tat aag gca gaa tat cgt cgt
 1590
 His Gly Ala Leu Gly Ala Glu Glu Asn Tyr Lys Ala Glu Tyr Arg Arg
 15 505 510 515 520
 ctg aaa caa atg aag gaa atg gga gtg aat tcg att cgt acg act cac
 1638
 Leu Lys Gln Met Lys Glu Met Gly Val Asn Ser Ile Arg Thr Thr His
 20 525 530 535
 aac cca gca agt cct cag acc ttg cag att gca gct gag ctc ggt ttg
 1686
 Asn Pro Ala Ser Pro Gln Thr Leu Gln Ile Ala Ala Glu Leu Gly Leu
 25 540 545 550
 ctt gtt caa gaa gaa gct ttt gat act tgg tat gga ggt aag aaa cca
 1734
 Leu Val Gln Glu Glu Ala Phe Asp Thr Trp Tyr Gly Gly Lys Lys Pro
 30 555 560 565
 tac gac tat ggt cgt ttc ttt gaa aaa gat gct acc cac cct gaa gca
 1782
 Tyr Asp Tyr Gly Arg Phe Phe Glu Lys Asp Ala Thr His Pro Glu Ala
 35 570 575 580
 aga aaa ggt gaa aaa tgg tcc gac tac gat ctt cga aca atg gta gaa
 1830
 Arg Lys Gly Glu Lys Trp Ser Asp Tyr Asp Leu Arg Thr Met Val Glu
 40 585 590 595 600
 aga gat aaa aac aat cct gct gtt gtt atg tgg tct att ggt aac gaa
 1878
 Arg Asp Lys Asn Asn Pro Ala Val Val Met Trp Ser Ile Gly Asn Glu
 45 605 610 615
 atc ggt gaa gca gat ggg aaa gcc cat tca ctg gta act gtc aaa cgt
 1926
 Ile Gly Glu Ala Asp Gly Lys Ala His Ser Leu Val Thr Val Lys Arg
 50 620 625 630

ES 2 352 704 A1

ttg gtc aaa gtg gtg aaa tct gtt gat aag aca cgt tat gta acc atg
1974
Leu Val Lys Val Val Lys Ser Val Asp Lys Thr Arg Tyr Val Thr Met

⁵ 635 640 645

gga gct gat aaa ttc cgt ttc gga gat gga act ggg gac cat gaa aag
2022
Gly Ala Asp Lys Phe Arg Phe Gly Asp Gly Thr Gly Asp His Glu Lys

10 Gly Ala Asp Lys Phe Arg Phe Gly Asp Gly Thr Gly Asp His Glu Lys
650 655 660

att gca gat gaa ctg gat gca gtt gga ttg aat tac tct gaa gaa aat
2070
Ile Ala Asp Glu Leu Asp Ala Val Gly Leu Asn Tyr Ser Glu Glu Asn

15 att gca gat gaa ctg gat gca gtt gga ttg aat tac tct gaa gaa aat
2070
Ile Ala Asp Glu Leu Asp Ala Val Gly Leu Asn Tyr Ser Glu Glu Asn
665 670 675 680
20

tat caa act ctt cat gcg aaa cat ccg aaa tgg ctc atc tat ggt tca
2118
Tyr Gln Thr Leu His Ala Lys His Pro Lys Trp Leu Ile Tyr Gly Ser

25 Tyr Gln Thr Leu His Ala Lys His Pro Lys Trp Leu Ile Tyr Gly Ser
685 690 695

gaa aca tct tca gca act cgt aca aga gga agt tat ttc cat cca gag
2166
Glu Thr Ser Ser Ala Thr Arg Thr Arg Gly Ser Tyr Phe His Pro Glu

30
2166
Glu Thr Ser Ser Ala Thr Arg Thr Arg Gly Ser Tyr Phe His Pro Glu
700 705 710

agt gag tgg gta gga agt aac caa tat tgg cgt aat tac gaa caa tcc
2214
Ser Glu Trp Val Gly Ser Asn Gln Tyr Trp Arg Asn Tyr Glu Gln Ser

35 agt gag tgg gta gga agt aac caa tat tgg cgt aat tac gaa caa tcc
2214
Ser Glu Trp Val Gly Ser Asn Gln Tyr Trp Arg Asn Tyr Glu Gln Ser
40 715 720 725

gat tat ggt aat gat cgt gtt ggt tgg ggt aaa act gct aca gca tca
2262
Asp Tyr Gly Asn Asp Arg Val Gly Trp Gly Lys Thr Ala Thr Ala Ser

45 Asp Tyr Gly Asn Asp Arg Val Gly Trp Gly Lys Thr Ala Thr Ala Ser
730 735 740

tgg acc ttc gat aga gat cat cca gga tac gct gga caa ttc att tgg
 2310
 Trp Thr Phe Asp Arg Asp His Pro Gly Tyr Ala Gly Gln Phe Ile Trp

50 **tgg acc ttc gat aga gat cat cca gga tac gct gga caa ttc att tgg**
 2310
 Trp Thr Phe Asp Arg Asp His Pro Gly Tyr Ala Gly Gln Phe Ile Trp
 745 750 755 760
 55

acc ggt acg gat tat att ggt gaa cca aca cca tgg cac aat caa aat
2358
Thr Gly Thr Asp Tyr Ile Gly Glu Pro Thr Pro Trp His Asn Gln Asn

acc ggt acg gat tat att ggt gaa cca aca cca tgg cac aat caa aat
2358 Thr Gly Thr Asp Tyr Ile Gly Glu Pro Thr Pro Trp His Asn Gln Asn
60
765 770 775

agt aca cca gta aaa agt tcc tac ttt ggt att gtt gat acc gca ggt

65

ES 2 352 704 A1

2406
Ser Thr Pro Val Lys Ser Ser Tyr Phe Gly Ile Val Asp Thr Ala Gly
780 785 790

5

att cca aaa aat gac tat tat ctc tac caa agt cag tgg gtt tct gcc
2454
Ile Pro Lys Asn Asp Tyr Tyr Leu Tyr Gln Ser Gln Trp Val Ser Ala
795 800 805

10

aag aaa aaa cca atg gtt cat tta ctt cct cac tgg aac tgg gaa aag
2502
Lys Lys Lys Pro Met Val His Leu Leu Pro His Trp Asn Trp Glu Lys
810 815 820

15

act gaa ttg gca gat aat gtt gca gac gct gaa aat cga att cca gtt
2550
Thr Glu Leu Ala Asp Asn Val Ala Asp Ala Glu Asn Arg Ile Pro Val
825 830 835 840

20

aga gct tat tcc aat gct gcc agt gtt gag ttg ttc tta aat aat gag
2598
Arg Ala Tyr Ser Asn Ala Ala Ser Val Glu Leu Phe Leu Asn Asn Glu
845 850 855

25

tca cta ggt ctt aaa aaa ttc aac aaa aaa caa aca agt gac ggt cga
2646
Ser Leu Gly Leu Lys Lys Phe Asn Lys Lys Gln Thr Ser Asp Gly Arg
860 865 870

30

aca tat caa gaa ggt gaa aat cct caa gaa cta tac ttg gag tgg aaa
2694
Thr Tyr Gln Glu Gly Glu Asn Pro Gln Glu Leu Tyr Leu Glu Trp Lys
875 880 885

35

gta gct tat aaa ccg gga act ttg gaa gct gta gct cga gat gag tct
2742
Val Ala Tyr Lys Pro Gly Thr Leu Glu Ala Val Ala Arg Asp Glu Ser
890 895 900

40

ggc aag gaa att gct cgt gat aag att gta act gct ggt gaa cct gca
2790
Gly Lys Glu Ile Ala Arg Asp Lys Ile Val Thr Ala Gly Glu Pro Ala
905 910 915 920

45

ggg gtc cgt ttg gtt aag gaa gaa aat gca atc gct gca gat gga aaa
2838
Gly Val Arg Leu Val Lys Glu Glu Asn Ala Ile Ala Ala Asp Gly Lys

50

55

60

65

ES 2 352 704 A1

| | 925 | 930 | 935 |
|----|--|------|----------|
| 5 | gat ttg act tat atc tat tac gaa att gta gat agc aag ggt aat gtt 2886 Asp Leu Thr Tyr Ile Tyr Tyr Glu Ile Val Asp Ser Lys Gly Asn Val | | |
| | 940 | 945 | 950 |
| 10 | gtg cca act gct aac aat cta gtt cac ttc caa ctt cat gga caa ggt 2934 Val Pro Thr Ala Asn Asn Leu Val His Phe Gln Leu His Gly Gln Gly | | |
| 15 | 955 | 960 | 965 |
| 20 | caa ctg gtt ggt gtg gat aat ggt gag caa gct agt cgt gaa cgt tat 2982 Gln Leu Val Gly Val Asp Asn Gly Glu Gln Ala Ser Arg Glu Arg Tyr | | |
| | 970 | 975 | 980 |
| 25 | aaa gaa caa gca gat ggt tct tgg att cgt aga gcc ttt aat ggt aaa 3030 Lys Glu Gln Ala Asp Gly Ser Trp Ile Arg Arg Ala Phe Asn Gly Lys | | |
| 30 | 985 | 990 | 995 1000 |
| 35 | ggg gta gcg att gtt aaa tcg act gat caa gca ggt aaa ttt acc 3075 Gly Val Ala Ile Val Lys Ser Thr Asp Gln Ala Gly Lys Phe Thr | | |
| | 1005 | 1010 | 1015 |
| 40 | ctt aca gca tat tca ggc ttg ttg aaa tca gat caa gtt aca gtt 3120 Leu Thr Ala Tyr Ser Gly Leu Leu Lys Ser Asp Gln Val Thr Val | | |
| | 1020 | 1025 | 1030 |
| 45 | ttt aca ggt aag tca gac cag tca gaa aaa act gtt tta gga aca 3165 Phe Thr Gly Lys Ser Asp Gln Ser Glu Lys Thr Val Leu Gly Thr | | |
| 50 | 1035 | 1040 | 1045 |
| 55 | gaa ata cca aaa gtt cgg aca gtt tta gga caa aaa ctt aaa atg 3210 Glu Ile Pro Lys Val Arg Thr Val Leu Gly Gln Lys Leu Lys Met | | |
| | 1050 | 1055 | 1060 |
| 60 | cct cag aca gtg cca ttt gta tat agt gat ggt agt cgt gaa aaa 3255 Pro Gln Thr Val Pro Phe Val Tyr Ser Asp Gly Ser Arg Glu Lys | | |
| 65 | 1065 | 1070 | 1075 |

ES 2 352 704 A1

| | | | |
|----|----------------------|---------------------|---------------------|
| | cgt cct gta acc tgg | tct caa gca gat gtc | agt caa gct gga att |
| | 3300 | | |
| 5 | Arg Pro Val Thr Trp | Ser Gln Ala Asp Val | Ser Gln Ala Gly Ile |
| | 1080 | 1085 | 1090 |
| | gta act gta aaa ggt | atg tct gat gga cgt | gaa gtt gag gct cgt |
| | 3345 | | |
| 10 | Val Thr Val Lys Gly | Met Ser Asp Gly Arg | Glu Val Glu Ala Arg |
| | 1095 | 1100 | 1105 |
| | gtt gaa gta ctt aca | gtt gcg aat gaa ctt | cca gct gtt aaa cgc |
| | 3390 | | |
| 15 | Val Glu Val Leu Thr | Val Ala Asn Glu Leu | Pro Ala Val Lys Arg |
| | 1110 | 1115 | 1120 |
| | atc aca cct gga aca | gac ttg agt tct gtg | gat aaa ctt gtt tca |
| | 3435 | | |
| 25 | Ile Thr Pro Gly Thr | Asp Leu Ser Ser Val | Asp Lys Leu Val Ser |
| | 1125 | 1130 | 1135 |
| | ctt gtt tca aca gat | ggg cgt att cac aat | tat gaa gtt gaa aat |
| | 3480 | | |
| 30 | Leu Val Ser Thr Asp | Gly Arg Ile His Asn | Tyr Glu Val Glu Asn |
| | 1140 | 1145 | 1150 |
| | tggt gaa att tca cca | gaa gat aaa gag aag | tta tct act ccg ggg |
| | 3525 | | |
| 40 | Trp Glu Ile Ser Pro | Glu Asp Lys Glu Lys | Leu Ser Thr Pro Gly |
| | 1155 | 1160 | 1165 |
| | gca cat att cag atg | act agc caa tta gga | gat aga acc atc cac |
| | 3570 | | |
| 45 | Ala His Ile Gln Met | Thr Ser Gln Leu Gly | Asp Arg Thr Ile His |
| | 1170 | 1175 | 1180 |
| | gct act ttg ata gtt | gat gat ggt aag gaa | ttg tct caa gtt aca |
| | 3615 | | |
| 50 | Ala Thr Leu Ile Val | Asp Asp Gly Lys Glu | Leu Ser Gln Val Thr |
| | 1185 | 1190 | 1195 |
| | cca aat ata gca gta | ggg ggt gaa agt gtt | acg gaa ctt tca aaa |
| | 3660 | | |
| 60 | Pro Asn Ile Ala Val | Gly Gly Glu Ser Val | Thr Glu Leu Ser Lys |
| | 1200 | 1205 | 1210 |
| | gag cat cct gta cat | tat cac aaa ctt tct | tat gga gca aaa att |
| | 3705 | | |
| 65 | Glu His Pro Val His | Tyr His Lys Leu Ser | Tyr Gly Ala Lys Ile |

ES 2 352 704 A1

| | | | | | | |
|----|--|--|--|------|--|------|
| | | 1215 | | 1220 | | 1225 |
| 5 | cca gaa gtc agt gct 3750 Pro Glu Val Ser Ala | agt gct gaa aat gcc Ser Ala Glu Asn Ala | gat gtg aac gtg att Asp Val Asn Val Ile | | | |
| | | 1230 | | 1235 | | 1240 |
| 10 | cag gca aat gaa tcc 3795 Gln Ala Asn Glu Ser | aat gga atg cgt gct Asn Gly Met Arg Ala | agt atc tac att cag Ser Ile Tyr Ile Gln | | | |
| 15 | | 1245 | | 1250 | | 1255 |
| 20 | cct aaa gac ggg gga 3840 Pro Lys Asp Gly Gly | cag tta caa acc tat Gln Leu Gln Thr Tyr | gct gtt cag ttc ctt Ala Val Gln Phe Leu | | | |
| | | 1260 | | 1265 | | 1270 |
| 25 | gtt gat tct cca caa 3885 Val Asp Ser Pro Gln | att gaa agc ttg agt Ile Glu Ser Leu Ser | ctc aga gtg gat caa Leu Arg Val Asp Gln | | | |
| 30 | | 1275 | | 1280 | | 1285 |
| 35 | gta tct agc ctc aaa 3930 Val Ser Ser Leu Lys | gaa gat caa act gtt Glu Asp Gln Thr Val | aaa gtg aca gtt tta Lys Val Thr Val Leu | | | |
| | | 1290 | | 1295 | | 1300 |
| 40 | gcc cgt tat cag gat 3975 Ala Arg Tyr Gln Asp | gga act gaa gct att Gly Thr Glu Ala Ile | tta cca act gat aag Leu Pro Thr Asp Lys | | | |
| | | 1305 | | 1310 | | 1315 |
| 45 | gtg act ttc tca agc 4020 Val Thr Phe Ser Ser | caa ggc gag gga gga Gln Gly Glu Gly Gly | gtc tct gtt aat aag Val Ser Val Asn Lys | | | |
| 50 | | 1320 | | 1325 | | 1330 |
| 55 | gga atg cta gag ttg 4065 Gly Met Leu Glu Leu | cat aaa ccg ggt agt His Lys Pro Gly Ser | ctc act tta caa gct Leu Thr Leu Gln Ala | | | |
| | | 1335 | | 1340 | | 1345 |
| 60 | caa tat gaa ggt gca 4110 Gln Tyr Glu Gly Ala | aaa gga gaa ctt cct Lys Gly Glu Leu Pro | cta acg atc gca gca Leu Thr Ile Ala Ala | | | |
| 65 | | 1350 | | 1355 | | 1360 |

ES 2 352 704 A1

| | | | |
|----|--|--|--|
| 5 | aat act gaa gat aaa 4155 Asn Thr Glu Asp Lys | ggt ggt cag gcc att Val Val Gln Ala Ile | cgc cca gtt agc ctt Arg Pro Val Ser Leu |
| | 1365 | 1370 | 1375 |
| 10 | gtg aca gat ttg cac 4200 Val Thr Asp Leu His | caa aca cca aat ctt Gln Thr Pro Asn Leu | cca tct aca gta aca Pro Ser Thr Val Thr |
| | 1380 | 1385 | 1390 |
| 15 | ggt gag tac gat aaa 4245 Val Glu Tyr Asp Lys | gga ttt cca aaa gtt Gly Phe Pro Lys Val | cat aag gta gtt tgg His Lys Val Val Trp |
| 20 | 1395 | 1400 | 1405 |
| 25 | gat tcg att cca tct 4290 Asp Ser Ile Pro Ser | gaa aaa tta aat caa Glu Lys Leu Asn Gln | tat cat act ttt gaa Tyr His Thr Phe Glu |
| | 1410 | 1415 | 1420 |
| 30 | gta ctt ggt aag gtt 4335 Val Leu Gly Lys Val | gaa gga ttg aat caa Glu Gly Leu Asn Gln | gaa gct cgt gcg aca Glu Ala Arg Ala Thr |
| | 1425 | 1430 | 1435 |
| 35 | gta tca gta gaa gga 4380 Val Ser Val Glu Gly | att gta aaa gtt gaa Ile Val Lys Val Glu | gat gtg agc atc aca Asp Val Ser Ile Thr |
| 40 | 1440 | 1445 | 1450 |
| 45 | aca cca att tct gag 4425 Thr Pro Ile Ser Glu | gca cca acc ttg cca Ala Pro Thr Leu Pro | gaa agt gtc cga act Glu Ser Val Arg Thr |
| | 1455 | 1460 | 1465 |
| 50 | tat tat tca aat ggc 4470 Tyr Tyr Ser Asn Gly | caa gta tct tca gct Gln Val Ser Ser Ala | aag gtg gct tgg gac Lys Val Ala Trp Asp |
| 55 | 1470 | 1475 | 1480 |
| 60 | act att gat gca agc 4515 Thr Ile Asp Ala Ser | cag tat gca aaa gaa Gln Tyr Ala Lys Glu | gga atc ttt act gta Gly Ile Phe Thr Val |
| | 1485 | 1490 | 1495 |
| 65 | aca ggc cat gta gaa 4560 | gga aca caa ctg aca | acg aaa tta cat gtt |

ES 2 352 704 A1

| | | | |
|----|---------------------|---------------------|---------------------|
| | Thr Gly His Val Glu | Gly Thr Gln Leu Thr | Thr Lys Leu His Val |
| | 1500 | 1505 | 1510 |
| 5 | cgt gta tcg agt caa | aca gaa att ggg aag | aat att tca gat caa |
| | 4605 | | |
| | Arg Val Ser Ser Gln | Thr Glu Ile Gly Lys | Asn Ile Ser Asp Gln |
| 10 | 1515 | 1520 | 1525 |
| | tgg aca ggt tca gaa | tta cca ctt gcc ttt | gca tca gat tct cat |
| | 4650 | | |
| 15 | Trp Thr Gly Ser Glu | Leu Pro Leu Ala Phe | Ala Ser Asp Ser His |
| | 1530 | 1535 | 1540 |
| 20 | tct tat gac cca gta | tct aat gta aat gat | aaa gtg att tct tac |
| | 4695 | | |
| | Ser Tyr Asp Pro Val | Ser Asn Val Asn Asp | Lys Val Ile Ser Tyr |
| 25 | 1545 | 1550 | 1555 |
| | ggg gat cag cct gca | aat cgt tgg tca aac | tgg aaa cgt tct gaa |
| | 4740 | | |
| 30 | Gly Asp Gln Pro Ala | Asn Arg Trp Ser Asn | Trp Lys Arg Ser Glu |
| | 1560 | 1565 | 1570 |
| 35 | gaa gct tca gta ggg | gta ctc ttt gga gat | tca ggt att ttg aca |
| | 4785 | | |
| | Glu Ala Ser Val Gly | Val Leu Phe Gly Asp | Ser Gly Ile Leu Thr |
| | 1575 | 1580 | 1585 |
| 40 | aaa cgt tcg gtc gat | aac ttg aat gta gca | ttt tat gaa gat agc |
| | 4830 | | |
| | Lys Arg Ser Val Asp | Asn Leu Asn Val Ala | Phe Tyr Glu Asp Ser |
| 45 | 1590 | 1595 | 1600 |
| | ggg gta ggt gct cca | aaa tct tac gtc att | gag tat tat gtt ggt |
| | 4875 | | |
| 50 | Gly Val Gly Ala Pro | Lys Ser Tyr Val Ile | Glu Tyr Tyr Val Gly |
| | 1605 | 1610 | 1615 |
| 55 | gaa aaa gct cca act | gca ccg aag aat cct | ggg tat gta gag ggt |
| | 4920 | | |
| | Glu Lys Ala Pro Thr | Ala Pro Lys Asn Pro | Gly Tyr Val Glu Gly |
| 60 | 1620 | 1625 | 1630 |
| | gaa aac cac gta ttt | aat gac agt aaa aat | tgg aaa cca gtc aca |
| | 4965 | | |
| 65 | Glu Asn His Val Phe | Asn Asp Ser Lys Asn | Trp Lys Pro Val Thr |
| | 1635 | 1640 | 1645 |

ES 2 352 704 A1

| | | | | |
|----|--|------|------|------|
| 5 | aat ctt aag gct cca gat cag tta aaa gct gga gaa atg aat cat 5010 Asn Leu Lys Ala Pro Asp Gln Leu Lys Ala Gly Glu Met Asn His | 1650 | 1655 | 1660 |
| 10 | ttc agt ttt gat aag gtg gat acc tac gcg gta cgt att cgc atg 5055 Phe Ser Phe Asp Lys Val Asp Thr Tyr Ala Val Arg Ile Arg Met | 1665 | 1670 | 1675 |
| 15 | aca aga gct gat gat aaa ctt gga aca tcc att aca gaa tta caa 5100 Thr Arg Ala Asp Asp Lys Leu Gly Thr Ser Ile Thr Glu Leu Gln | 1680 | 1685 | 1690 |
| 20 | | | | |
| 25 | gtt ttc tct aaa aag gta gca cca gct aaa gag gca act act aac 5145 Val Phe Ser Lys Lys Val Ala Pro Ala Lys Glu Ala Thr Thr Asn | 1695 | 1700 | 1705 |
| 30 | att aag gtt gct gga aaa gat ctt cct cac ttt aat cca gac tta 5190 Ile Lys Val Ala Gly Lys Asp Leu Pro His Phe Asn Pro Asp Leu | 1710 | 1715 | 1720 |
| 35 | | | | |
| 40 | aca gat tac tat tta gac tat agt gat gga aaa att cca gaa gta 5235 Thr Asp Tyr Tyr Leu Asp Tyr Ser Asp Gly Lys Ile Pro Glu Val | 1725 | 1730 | 1735 |
| 45 | aca gct agt atc aca aat aat gga ctt gct aca gtg gtt cct agc 5280 Thr Ala Ser Ile Thr Asn Asn Gly Leu Ala Thr Val Val Pro Ser | 1740 | 1745 | 1750 |
| 50 | gtg aaa gag ggc gat cct gtc cgt gtt att gtg aaa gca gaa aat 5325 Val Lys Glu Gly Asp Pro Val Arg Val Ile Val Lys Ala Glu Asn | 1755 | 1760 | 1765 |
| 55 | | | | |
| 60 | ggc gat att ctt gga gaa tac aac ctt cac ttt aca aaa gat aaa 5370 Gly Asp Ile Leu Gly Glu Tyr Asn Leu His Phe Thr Lys Asp Lys | 1770 | 1775 | 1780 |
| 65 | gat ttg ttg gct cgt aaa cca att gct tct gca aaa cag tct caa | | | |

ES 2 352 704 A1

| | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|----|------|-----|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|-----|-----|------|
| | 5415 | Asp | Leu | Leu | Ala | Arg | Lys | Pro | Ile | Ala | Ser | Ala | Lys | Gln | Ser | Gln | |
| 5 | | | | | | | 1785 | | | | 1790 | | | | | | 1795 |
| | 5460 | ttg | ttg | cag | tta | ggg | caa | cct | ttg | gaa | ttg | cca | aat | aag | gtt | cca | |
| 10 | | Leu | Leu | Gln | Leu | Gly | Gln | Pro | Leu | Glu | Leu | Pro | Asn | Lys | Val | Pro | |
| | | | | | | | 1800 | | | | 1805 | | | | | | 1810 |
| | 5505 | gtt | tat | ttc | gca | ggg | aag | agc | ggg | tat | gac | gta | aaa | gat | ttg | gca | |
| 15 | | Val | Tyr | Phe | Ala | Gly | Lys | Ser | Gly | Tyr | Asp | Val | Lys | Asp | Leu | Ala | |
| | | | | | | | 1815 | | | | 1820 | | | | | | 1825 |
| 20 | | gtt | gaa | tgg | gaa | aaa | gtc | cct | gct | tct | acc | tta | aac | aaa | gct | ggg | |
| | 5550 | Val | Glu | Trp | Glu | Lys | Val | Pro | Ala | Ser | Thr | Leu | Asn | Lys | Ala | Gly | |
| 25 | | | | | | | 1830 | | | | 1835 | | | | | | 1840 |
| | 5595 | gaa | tat | aca | att | aaa | ggc | cat | gta | gtt | ggg | agt | gag | gtc | cca | gta | |
| 30 | | Glu | Tyr | Thr | Ile | Lys | Gly | His | Val | Val | Gly | Ser | Glu | Val | Pro | Val | |
| | | | | | | | 1845 | | | | 1850 | | | | | | 1855 |
| 35 | | gaa | tta | tct | gtt | cga | gta | acg | gac | aag | gtc | ggg | aga | tca | ctt | tct | |
| | 5640 | Glu | Leu | Ser | Val | Arg | Val | Thr | Asp | Lys | Val | Gly | Arg | Ser | Leu | Ser | |
| 40 | | | | | | | 1860 | | | | 1865 | | | | | | 1870 |
| | 5685 | gat | aat | cca | gat | tat | ctt | gct | act | cat | agt | cag | gct | ttt | gct | tca | |
| 45 | | Asp | Asn | Pro | Asp | Tyr | Leu | Ala | Thr | His | Ser | Gln | Ala | Phe | Ala | Ser | |
| | | | | | | | 1875 | | | | 1880 | | | | | | 1885 |
| 50 | | gct | act | aat | gat | ttg | gat | gat | aat | tcg | aac | gac | cgt | gta | gac | tat | |
| | 5730 | Ala | Thr | Asn | Asp | Leu | Asp | Asp | Asn | Ser | Asn | Asp | Arg | Val | Asp | Tyr | |
| | | | | | | | 1890 | | | | 1895 | | | | | | 1900 |
| 55 | | tta | aat | gat | aat | gac | cga | aat | caa | gac | aac | cgt | tgg | aca | aac | tgg | |
| | 5775 | Leu | Asn | Asp | Asn | Asp | Arg | Asn | Gln | Asp | Asn | Arg | Trp | Thr | Asn | Trp | |
| 60 | | | | | | | 1905 | | | | 1910 | | | | | | 1915 |
| | 5820 | tcc | gct | act | cca | tct | gct | aat | cca | gaa | gta | tca | gtt | ggg | gtt | atc | |
| 65 | | Ser | Ala | Thr | Pro | Ser | Ala | Asn | Pro | Glu | Val | Ser | Val | Gly | Val | Ile | |

ES 2 352 704 A1

| | 1920 | 1925 | 1930 |
|----|--|--|--|
| 5 | ttt aaa aag aat ggt 5865 Phe Lys Lys Asn Gly | aaa att gtg gat aga Lys Ile Val Asp Arg | aag gtt tca caa gct Lys Val Ser Gln Ala |
| | 1935 | 1940 | 1945 |
| 10 | aaa cta aac ttc ttt 5910 Lys Leu Asn Phe Phe | gca gat agt gga aca Ala Asp Ser Gly Thr | gat gcc cca gct aaa Asp Ala Pro Ala Lys |
| 15 | 1950 | 1955 | 1960 |
| 20 | ctc gta ttg gaa cga 5955 Leu Val Leu Glu Arg | tac atc ggt cct gac Tyr Ile Gly Pro Asp | ttt gat gtt ccg gtt Phe Asp Val Pro Val |
| | 1965 | 1970 | 1975 |
| 25 | tac tat tca aac tac 6000 Tyr Tyr Ser Asn Tyr | agc tac gaa tca aat Ser Tyr Glu Ser Asn | cat cca ttt aat aac His Pro Phe Asn Asn |
| 30 | 1980 | 1985 | 1990 |
| 35 | cct gat aat tgg gaa 6045 Pro Asp Asn Trp Glu | ctt gtt cct tat tac Leu Val Pro Tyr Tyr | gca gac aaa gaa att Ala Asp Lys Glu Ile |
| | 1995 | 2000 | 2005 |
| 40 | caa gct gga aat gag 6090 Gln Ala Gly Asn Glu | atc aat gtg acc ttt Ile Asn Val Thr Phe | aaa gct gtg act acc Lys Ala Val Thr Thr |
| | 2010 | 2015 | 2020 |
| 45 | aaa gct atg aga tgg 6135 Lys Ala Met Arg Trp | cgt atg gac aga aaa Arg Met Asp Arg Lys | gca gat aaa aat ggg Ala Asp Lys Asn Gly |
| 50 | 2025 | 2030 | 2035 |
| 55 | gtt gca cta act gaa 6180 Val Ala Leu Thr Glu | tta agt ttc cga gca Leu Ser Phe Arg Ala | cca agt gag ctt gca Pro Ser Glu Leu Ala |
| | 2040 | 2045 | 2050 |
| 60 | aaa gag agc aca gag 6225 Lys Glu Ser Thr Glu | gga aga att tta gta Gly Arg Ile Leu Val | gat ggt aaa gag ctt Asp Gly Lys Glu Leu |
| 65 | 2055 | 2060 | 2065 |

ES 2 352 704 A1

| | | | |
|----|---------------------|---------------------|---------------------|
| | cct gac ttc tct gaa | aat cgt ttg gac tat | gaa ttg att tat aaa |
| | 6270 | | |
| 5 | Pro Asp Phe Ser Glu | Asn Arg Leu Asp Tyr | Glu Leu Ile Tyr Lys |
| | 2070 | 2075 | 2080 |
| | ggg gaa cgt cca aaa | atc act gta gaa ggg | aaa gat caa gtc aca |
| | 6315 | | |
| 10 | Gly Glu Arg Pro Lys | Ile Thr Val Glu Gly | Lys Asp Gln Val Thr |
| | 2085 | 2090 | 2095 |
| | tct aca att gtg gat | agt gga aat gaa aat | ctt cct gta tta gtc |
| | 6360 | | |
| 15 | Ser Thr Ile Val Asp | Ser Gly Asn Glu Asn | Leu Pro Val Leu Val |
| | 2100 | 2105 | 2110 |
| | cgt ctg gta tca gag | agt ggt aag aat gtc | aaa gaa tac cgg att |
| | 6405 | | |
| 25 | Arg Leu Val Ser Glu | Ser Gly Lys Asn Val | Lys Glu Tyr Arg Ile |
| | 2115 | 2120 | 2125 |
| | aaa ttg act aag gaa | aaa gtg ata gac gca | aaa ctt gta gct cct |
| | 6450 | | |
| 30 | Lys Leu Thr Lys Glu | Lys Val Ile Asp Ala | Lys Leu Val Ala Pro |
| | 2130 | 2135 | 2140 |
| | gct caa tat gac ttg | cct agt ctt gaa gtg | gta gac aaa gaa ttg |
| | 6495 | | |
| 35 | Ala Gln Tyr Asp Leu | Pro Ser Leu Glu Val | Val Asp Lys Glu Leu |
| | 2145 | 2150 | 2155 |
| | aac ttc caa act ctt | gaa caa aaa gac gat | act ctg ttt gag gga |
| | 6540 | | |
| 45 | Asn Phe Gln Thr Leu | Glu Gln Lys Asp Asp | Thr Leu Phe Glu Gly |
| | 2160 | 2165 | 2170 |
| | gaa gtt cgc ctg ttg | caa gaa ggt aaa gtt | ggg aag gaa cgt atc |
| | 6585 | | |
| 50 | Glu Val Arg Leu Leu | Gln Glu Gly Lys Val | Gly Lys Glu Arg Ile |
| | 2175 | 2180 | 2185 |
| | tat aca gaa gta acg | act gat ggc aag aat | aaa gaa aaa tca cgt |
| | 6630 | | |
| 60 | Tyr Thr Glu Val Thr | Thr Asp Gly Lys Asn | Lys Glu Lys Ser Arg |
| | 2190 | 2195 | 2200 |
| | gag att ctg gaa gaa | cct gta aat aga att | ctg ttg gta ggt act |
| | 6675 | | |
| 65 | Glu Ile Leu Glu Glu | Pro Val Asn Arg Ile | Leu Leu Val Gly Thr |

ES 2 352 704 A1

| | | | |
|----|--|--|--|
| | 2205 | 2210 | 2215 |
| 5 | aag aag aaa aca agt 6720 Lys Lys Lys Thr Ser | aac att gag acg ccg Asn Ile Glu Thr Pro | gcg ggt gga cat caa Ala Gly Gly His Gln |
| | 2220 | 2225 | 2230 |
| 10 | gac aat ggt agc agt 6765 Asp Asn Gly Ser Ser | caa cct acg gaa caa Gln Pro Thr Glu Gln | aaa cca gga gca aat Lys Pro Gly Ala Asn |
| 15 | 2235 | 2240 | 2245 |
| 20 | ccg aat cca aat att 6810 Pro Asn Pro Asn Ile | gtc att cca aat cca Val Ile Pro Asn Pro | tca aat aat ggt gtg Ser Asn Asn Gly Val |
| | 2250 | 2255 | 2260 |
| 25 | aca agt aac agt tca 6855 Thr Ser Asn Ser Ser | gat ttt aaa aat cat Asp Phe Lys Asn His | cta tca gtt gct ccg Leu Ser Val Ala Pro |
| 30 | 2265 | 2270 | 2275 |
| 35 | aac att gtg ata caa 6900 Asn Ile Val Ile Gln | gct cct act cag gaa Ala Pro Thr Gln Glu | agc aaa aaa cct gga Ser Lys Lys Pro Gly |
| | 2280 | 2285 | 2290 |
| 40 | tgg aac aag gaa gat 6945 Trp Asn Lys Glu Asp | ggg aaa tgg tat tat Gly Lys Trp Tyr Tyr | cgt caa caa aat ggg Arg Gln Gln Asn Gly |
| | 2295 | 2300 | 2305 |
| 45 | gac ttg gct aag ggt 6990 Asp Leu Ala Lys Gly | tgg gtc aaa gat gga Trp Val Lys Asp Gly | gat act tgg tat tac Asp Thr Trp Tyr Tyr |
| 50 | 2310 | 2315 | 2320 |
| 55 | ttt gat caa aca gga 7035 Phe Asp Gln Thr Gly | aaa atg gaa act ggc Lys Met Glu Thr Gly | tgg att aaa gat caa Trp Ile Lys Asp Gln |
| | 2325 | 2330 | 2335 |
| 60 | tca ggt gca tgg tat 7080 Ser Gly Ala Trp Tyr | tac ttg aat caa tca Tyr Leu Asn Gln Ser | ggg gca atg tca tct Gly Ala Met Ser Ser |
| 65 | 2340 | 2345 | 2350 |

ES 2 352 704 A1

```

    aat gag tgg att ttg  gat caa gat ggt aag  tgg tac tat gtt gat
    7125
    Asn Glu Trp Ile Leu  Asp Gln Asp Gly Lys  Trp Tyr Tyr Val Asp
5      2355                      2360                      2365

    gca tca ggt tcg atg  aag aca agt caa tgg  ttc caa gtt gga gac
    7170
    Ala Ser Gly Ser Met  Lys Thr Ser Gln Trp  Phe Gln Val Gly Asp
10     2370                      2375                      2380

    aaa tgg tat tat gtt  gat gca aat gga tcc  ctt gct gtc aat aca
    7215
    Lys Trp Tyr Tyr Val  Asp Ala Asn Gly Ser  Leu Ala Val Asn Thr
15     2385                      2390                      2395

    gta act ccg gat ggt  tat caa gta aat gaa  aac ggt gag tgg atc
    7260
    Val Thr Pro Asp Gly  Tyr Gln Val Asn Glu  Asn Gly Glu Trp Ile
25     2400                      2405                      2410

    gga taa
    7266
    Gly

30

35 <210> 2
    <211> 2411
    <212> PRT
    <213> Streptococcus mitis
40

    <400> 2

45     Met Gln Lys Gly Asn Trp Asn Lys Lys Arg Val Tyr Ser Ile Arg Lys
        1          5          10          15

    Phe Ser Val Gly Ala Cys Ser Val Leu Ile Gly Thr Cys Ala Leu Leu
        20          25          30

50     Leu Gly Ala Gly Val Ser Leu Ser Ser Ser Val Tyr Ala Asn Glu Asn
        35          40          45

55     Ala Glu Glu Ile Val Leu Thr Asn Arg Thr Glu His Gln Ser Glu Asn
        50          55          60

60     Leu Lys Thr Thr Gly Leu Ser Ser Glu His Lys Ala Glu Gly Val Thr
        65          70          75          80

65     Thr Glu Lys Ala Ser Glu Gln Pro Val Lys Ala Glu Asn Val Ser Leu
        85          90          95

```

ES 2 352 704 A1

Lys Glu Asn Ala Asp Gly Ser Asp Ala Val Val Lys Pro His Ala Asp
 100 105 110
 5 Gln Pro Leu Val Ser Val Ala Asn Asn Gln Ser Val Pro Leu Glu Glu
 115 120 125
 10 Gly Lys Ala Glu Val Glu Asn Lys Thr Glu Glu Arg Asn Lys Pro Glu
 130 135 140
 15 Asp Arg Asn Lys Leu Glu Glu Thr Asn Lys Thr Glu Val Thr Asp Lys
 145 150 155 160
 20 Ser Glu Asp Lys Asn Lys Ser Glu Glu Thr Asn Lys Ala Glu Ser Gln
 165 170 175
 25 Asp Arg Ser Val Ser Lys Asp Lys Gln Glu Phe Lys Ser Ala Thr Asn
 180 185 190
 30 Glu Val Val Asp Lys Leu Ile Glu Asp Arg Asn Ile Ser Phe Asn Gln
 195 200 205
 35 Asn Trp His Phe Lys Leu Asn Ala Asn Ala Lys Glu Ala Val Lys Pro
 210 215 220
 40 Asp Ala Asp Ile Ser Ser Trp Lys Lys Met Asp Leu Pro His Asp Trp
 225 230 235 240
 45 Ser Ile His Phe Asp Phe Asp His Asp Ser Pro Ala Gln Asn Glu Gly
 245 250 255
 50 Gly Gln Leu Asn Gly Gly Asp Gly Trp Tyr Arg Lys Thr Phe Lys Leu
 260 265 270
 55 Asp Glu Lys Asp Leu Asn Lys Asp Val Arg Val Thr Phe Asp Gly Val
 275 280 285
 60 Tyr Met Asp Ser Gln Val Phe Val Asn Gly Gln Leu Val Gly His Tyr
 290 295 300
 65 Pro Asn Gly Tyr Asn Gln Phe Ser Tyr Asp Ile Ser Asn Tyr Leu His
 305 310 315 320
 Lys Asp Gly Arg Glu Asn Val Ile Ser Val His Ala Val Asn Lys Gln
 325 330 335
 Pro Ser Ser Arg Trp Tyr Ser Gly Ser Gly Ile Tyr Arg Asp Val Ser
 340 345 350

ES 2 352 704 A1

Leu Gln Val Thr Asp Lys Ile His Val Glu Lys Asn Gly Thr Thr Ile
 355 360 365
 5 Leu Thr Pro Lys Leu Glu Ser Gln Gln Gly Gly Lys Val Glu Thr Gln
 370 375 380
 10 Val Ser Ser Lys Ile Val Asn Thr Asp Asn Lys Asp His Glu Ile Val
 385 390 395 400
 15 Ala Glu Tyr Gln Ile Phe Glu Arg Gly Gly Lys Ala Val Thr Glu Leu
 405 410 415
 20 Val Arg Thr Glu Ser Lys Thr Leu Lys Ala Lys Glu Thr Ile His Leu
 420 425 430
 25 Asp Ser Ala Leu Glu Val Glu Lys Pro Lys Leu Trp Thr Val Ser Ser
 435 440 445
 30 Asp Lys Pro Ala Leu Tyr Glu Met Val Thr Arg Val Tyr Lys Asp Gly
 450 455 460
 35 Gln Leu Val Asp Ala Lys Lys Asp Leu Phe Gly Tyr Arg Tyr Tyr Asn
 465 470 475 480
 40 Trp Thr Pro Asp Gln Gly Phe Ser Leu Asn Gly Glu His Ile Lys Phe
 485 490 495
 45 His Gly Val Ser Leu His His Asp His Gly Ala Leu Gly Ala Glu Glu
 500 505 510
 50 Asn Tyr Lys Ala Glu Tyr Arg Arg Leu Lys Gln Met Lys Glu Met Gly
 515 520 525
 55 Val Asn Ser Ile Arg Thr Thr His Asn Pro Ala Ser Pro Gln Thr Leu
 530 535 540
 60 Gln Ile Ala Ala Glu Leu Gly Leu Leu Val Gln Glu Glu Ala Phe Asp
 545 550 555 560
 65 Thr Trp Tyr Gly Gly Lys Lys Pro Tyr Asp Tyr Gly Arg Phe Phe Glu
 565 570 575
 70 Lys Asp Ala Thr His Pro Glu Ala Arg Lys Gly Glu Lys Trp Ser Asp
 580 585 590
 75 Tyr Asp Leu Arg Thr Met Val Glu Arg Asp Lys Asn Asn Pro Ala Val
 595 600 605
 80 Val Met Trp Ser Ile Gly Asn Glu Ile Gly Glu Ala Asp Gly Lys Ala
 610 615 620

ES 2 352 704 A1

His Ser Leu Val Thr Val Lys Arg Leu Val Lys Val Val Lys Ser Val
 625 630 635 640
 5 Asp Lys Thr Arg Tyr Val Thr Met Gly Ala Asp Lys Phe Arg Phe Gly
 645 650 655
 10 Asp Gly Thr Gly Asp His Glu Lys Ile Ala Asp Glu Leu Asp Ala Val
 660 665 670
 15 Gly Leu Asn Tyr Ser Glu Glu Asn Tyr Gln Thr Leu His Ala Lys His
 675 680 685
 20 Pro Lys Trp Leu Ile Tyr Gly Ser Glu Thr Ser Ser Ala Thr Arg Thr
 690 695 700
 25 Arg Gly Ser Tyr Phe His Pro Glu Ser Glu Trp Val Gly Ser Asn Gln
 705 710 715 720
 30 Tyr Trp Arg Asn Tyr Glu Gln Ser Asp Tyr Gly Asn Asp Arg Val Gly
 725 730 735
 35 Trp Gly Lys Thr Ala Thr Ala Ser Trp Thr Phe Asp Arg Asp His Pro
 740 745 750
 40 Gly Tyr Ala Gly Gln Phe Ile Trp Thr Gly Thr Asp Tyr Ile Gly Glu
 755 760 765
 45 Pro Thr Pro Trp His Asn Gln Asn Ser Thr Pro Val Lys Ser Ser Tyr
 770 775 780
 50 Phe Gly Ile Val Asp Thr Ala Gly Ile Pro Lys Asn Asp Tyr Tyr Leu
 785 790 795 800
 55 Tyr Gln Ser Gln Trp Val Ser Ala Lys Lys Lys Pro Met Val His Leu
 805 810 815
 60 Leu Pro His Trp Asn Trp Glu Lys Thr Glu Leu Ala Asp Asn Val Ala
 820 825 830
 65 Asp Ala Glu Asn Arg Ile Pro Val Arg Ala Tyr Ser Asn Ala Ala Ser
 835 840 845
 Val Glu Leu Phe Leu Asn Asn Glu Ser Leu Gly Leu Lys Lys Phe Asn
 850 855 860
 Lys Lys Gln Thr Ser Asp Gly Arg Thr Tyr Gln Glu Gly Glu Asn Pro
 865 870 875 880

ES 2 352 704 A1

Gln Glu Leu Tyr Leu₈₈₅ Glu Trp Lys Val Ala₈₉₀ Tyr Lys Pro Gly Thr₈₉₅ Leu
 5 Glu Ala Val Ala Arg Asp Glu Ser Gly₉₀₅ Lys Glu Ile Ala Arg₉₁₀ Asp Lys
 10 Ile Val Thr₉₁₅ Ala Gly Glu Pro Ala₉₂₀ Gly Val Arg Leu Val₉₂₅ Lys Glu Glu
 15 Asn Ala₉₃₀ Ile Ala Ala Asp Gly₉₃₅ Lys Asp Leu Thr Tyr₉₄₀ Ile Tyr Tyr Glu
 Ile Val Asp Ser Lys Gly₉₅₀ Asn Val Val Pro Thr₉₅₅ Ala Asn Asn Leu Val₉₆₀
 20 His Phe Gln Leu His₉₆₅ Gly Gln Gly Gln Leu Val Gly Val Asp Asn₉₇₅ Gly
 25 Glu Gln Ala Ser Arg Glu Arg Tyr Lys₉₈₅ Glu Gln Ala Asp Gly₉₉₀ Ser Trp
 30 Ile Arg Arg₉₉₅ Ala Phe Asn Gly Lys₁₀₀₀ Gly Val Ala Ile Val₁₀₀₅ Lys Ser Thr
 35 Asp Gln₁₀₁₀ Ala Gly Lys Phe Thr₁₀₁₅ Leu Thr Ala Tyr Ser₁₀₂₀ Gly Leu Leu
 40 Lys Ser₁₀₂₅ Asp Gln Val Thr Val₁₀₃₀ Phe Thr Gly Lys Ser₁₀₃₅ Asp Gln Ser
 45 Glu Lys₁₀₄₀ Thr Val Leu Gly Thr₁₀₄₅ Glu Ile Pro Lys Val₁₀₅₀ Arg Thr Val
 50 Leu Gly₁₀₅₅ Gln Lys Leu Lys Met₁₀₆₀ Pro Gln Thr Val Pro₁₀₆₅ Phe Val Tyr
 55 Ser Asp₁₀₇₀ Gly Ser Arg Glu Lys₁₀₇₅ Arg Pro Val Thr Trp₁₀₈₀ Ser Gln Ala
 Asp Val₁₀₈₅ Ser Gln Ala Gly Ile₁₀₉₀ Val Thr Val Lys Gly₁₀₉₅ Met Ser Asp
 60 Gly Arg₁₁₀₀ Glu Val Glu Ala Arg₁₁₀₅ Val Glu Val Leu Thr₁₁₁₀ Val Ala Asn
 65 Glu Leu₁₁₁₅ Pro Ala Val Lys Arg₁₁₂₀ Ile Thr Pro Gly Thr₁₁₂₅ Asp Leu Ser
 Ser Val₁₁₃₀ Asp Lys Leu Val Ser₁₁₃₅ Leu Val Ser Thr Asp₁₁₄₀ Gly Arg Ile

ES 2 352 704 A1

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|----|-----|------|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|
| | His | Asn | Tyr | Glu | Val | Glu | Asn | Trp | Glu | Ile | Ser | Pro | Glu | Asp | Lys |
| | | 1145 | | | | | 1150 | | | | | 1155 | | | |
| 5 | Glu | Lys | Leu | Ser | Thr | Pro | Gly | Ala | His | Ile | Gln | Met | Thr | Ser | Gln |
| | | 1160 | | | | | 1165 | | | | | 1170 | | | |
| 10 | Leu | Gly | Asp | Arg | Thr | Ile | His | Ala | Thr | Leu | Ile | Val | Asp | Asp | Gly |
| | | 1175 | | | | | 1180 | | | | | 1185 | | | |
| 15 | Lys | Glu | Leu | Ser | Gln | Val | Thr | Pro | Asn | Ile | Ala | Val | Gly | Gly | Glu |
| | | 1190 | | | | | 1195 | | | | | 1200 | | | |
| 20 | Ser | Val | Thr | Glu | Leu | Ser | Lys | Glu | His | Pro | Val | His | Tyr | His | Lys |
| | | 1205 | | | | | 1210 | | | | | 1215 | | | |
| 25 | Leu | Ser | Tyr | Gly | Ala | Lys | Ile | Pro | Glu | Val | Ser | Ala | Ser | Ala | Glu |
| | | 1220 | | | | | 1225 | | | | | 1230 | | | |
| 30 | Asn | Ala | Asp | Val | Asn | Val | Ile | Gln | Ala | Asn | Glu | Ser | Asn | Gly | Met |
| | | 1235 | | | | | 1240 | | | | | 1245 | | | |
| 35 | Arg | Ala | Ser | Ile | Tyr | Ile | Gln | Pro | Lys | Asp | Gly | Gly | Gln | Leu | Gln |
| | | 1250 | | | | | 1255 | | | | | 1260 | | | |
| 40 | Thr | Tyr | Ala | Val | Gln | Phe | Leu | Val | Asp | Ser | Pro | Gln | Ile | Glu | Ser |
| | | 1265 | | | | | 1270 | | | | | 1275 | | | |
| 45 | Leu | Ser | Leu | Arg | Val | Asp | Gln | Val | Ser | Ser | Leu | Lys | Glu | Asp | Gln |
| | | 1280 | | | | | 1285 | | | | | 1290 | | | |
| 50 | Thr | Val | Lys | Val | Thr | Val | Leu | Ala | Arg | Tyr | Gln | Asp | Gly | Thr | Glu |
| | | 1295 | | | | | 1300 | | | | | 1305 | | | |
| 55 | Ala | Ile | Leu | Pro | Thr | Asp | Lys | Val | Thr | Phe | Ser | Ser | Gln | Gly | Glu |
| | | 1310 | | | | | 1315 | | | | | 1320 | | | |
| 60 | Gly | Gly | Val | Ser | Val | Asn | Lys | Gly | Met | Leu | Glu | Leu | His | Lys | Pro |
| | | 1325 | | | | | 1330 | | | | | 1335 | | | |
| 65 | Gly | Ser | Leu | Thr | Leu | Gln | Ala | Gln | Tyr | Glu | Gly | Ala | Lys | Gly | Glu |
| | | 1340 | | | | | 1345 | | | | | 1350 | | | |
| | Leu | Pro | Leu | Thr | Ile | Ala | Ala | Asn | Thr | Glu | Asp | Lys | Val | Val | Gln |
| | | 1355 | | | | | 1360 | | | | | 1365 | | | |
| | Ala | Ile | Arg | Pro | Val | Ser | Leu | Val | Thr | Asp | Leu | His | Gln | Thr | Pro |
| | | 1370 | | | | | 1375 | | | | | 1380 | | | |

ES 2 352 704 A1

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|----|-----|------|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|
| | Asn | Leu | Pro | Ser | Thr | Val | Thr | Val | Glu | Tyr | Asp | Lys | Gly | Phe | Pro |
| | | 1385 | | | | | 1390 | | | | | 1395 | | | |
| 5 | Lys | Val | His | Lys | Val | Val | Trp | Asp | Ser | Ile | Pro | Ser | Glu | Lys | Leu |
| | | 1400 | | | | | 1405 | | | | | 1410 | | | |
| 10 | Asn | Gln | Tyr | His | Thr | Phe | Glu | Val | Leu | Gly | Lys | Val | Glu | Gly | Leu |
| | | 1415 | | | | | 1420 | | | | | 1425 | | | |
| 15 | Asn | Gln | Glu | Ala | Arg | Ala | Thr | Val | Ser | Val | Glu | Gly | Ile | Val | Lys |
| | | 1430 | | | | | 1435 | | | | | 1440 | | | |
| 20 | Val | Glu | Asp | Val | Ser | Ile | Thr | Thr | Pro | Ile | Ser | Glu | Ala | Pro | Thr |
| | | 1445 | | | | | 1450 | | | | | 1455 | | | |
| 25 | Leu | Pro | Glu | Ser | Val | Arg | Thr | Tyr | Tyr | Ser | Asn | Gly | Gln | Val | Ser |
| | | 1460 | | | | | 1465 | | | | | 1470 | | | |
| 30 | Ser | Ala | Lys | Val | Ala | Trp | Asp | Thr | Ile | Asp | Ala | Ser | Gln | Tyr | Ala |
| | | 1475 | | | | | 1480 | | | | | 1485 | | | |
| 35 | Lys | Glu | Gly | Ile | Phe | Thr | Val | Thr | Gly | His | Val | Glu | Gly | Thr | Gln |
| | | 1490 | | | | | 1495 | | | | | 1500 | | | |
| 40 | Leu | Thr | Thr | Lys | Leu | His | Val | Arg | Val | Ser | Ser | Gln | Thr | Glu | Ile |
| | | 1505 | | | | | 1510 | | | | | 1515 | | | |
| 45 | Gly | Lys | Asn | Ile | Ser | Asp | Gln | Trp | Thr | Gly | Ser | Glu | Leu | Pro | Leu |
| | | 1520 | | | | | 1525 | | | | | 1530 | | | |
| 50 | Ala | Phe | Ala | Ser | Asp | Ser | His | Ser | Tyr | Asp | Pro | Val | Ser | Asn | Val |
| | | 1535 | | | | | 1540 | | | | | 1545 | | | |
| 55 | Asn | Asp | Lys | Val | Ile | Ser | Tyr | Gly | Asp | Gln | Pro | Ala | Asn | Arg | Trp |
| | | 1550 | | | | | 1555 | | | | | 1560 | | | |
| 60 | Ser | Asn | Trp | Lys | Arg | Ser | Glu | Glu | Ala | Ser | Val | Gly | Val | Leu | Phe |
| | | 1565 | | | | | 1570 | | | | | 1575 | | | |
| 65 | Gly | Asp | Ser | Gly | Ile | Leu | Thr | Lys | Arg | Ser | Val | Asp | Asn | Leu | Asn |
| | | 1580 | | | | | 1585 | | | | | 1590 | | | |
| 70 | Val | Ala | Phe | Tyr | Glu | Asp | Ser | Gly | Val | Gly | Ala | Pro | Lys | Ser | Tyr |
| | | 1595 | | | | | 1600 | | | | | 1605 | | | |
| 75 | Val | Ile | Glu | Tyr | Tyr | Val | Gly | Glu | Lys | Ala | Pro | Thr | Ala | Pro | Lys |
| | | 1610 | | | | | 1615 | | | | | 1620 | | | |
| 80 | Asn | Pro | Gly | Tyr | Val | Glu | Gly | Glu | Asn | His | Val | Phe | Asn | Asp | Ser |
| | | 1625 | | | | | 1630 | | | | | 1635 | | | |

ES 2 352 704 A1

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|----|-----|------|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|
| | Lys | Asn | Trp | Lys | Pro | Val | Thr | Asn | Leu | Lys | Ala | Pro | Asp | Gln | Leu |
| | | 1640 | | | | | 1645 | | | | | 1650 | | | |
| 5 | Lys | Ala | Gly | Glu | Met | Asn | His | Phe | Ser | Phe | Asp | Lys | Val | Asp | Thr |
| | | 1655 | | | | | 1660 | | | | | 1665 | | | |
| 10 | Tyr | Ala | Val | Arg | Ile | Arg | Met | Thr | Arg | Ala | Asp | Asp | Lys | Leu | Gly |
| | | 1670 | | | | | 1675 | | | | | 1680 | | | |
| 15 | Thr | Ser | Ile | Thr | Glu | Leu | Gln | Val | Phe | Ser | Lys | Lys | Val | Ala | Pro |
| | | 1685 | | | | | 1690 | | | | | 1695 | | | |
| 20 | Ala | Lys | Glu | Ala | Thr | Thr | Asn | Ile | Lys | Val | Ala | Gly | Lys | Asp | Leu |
| | | 1700 | | | | | 1705 | | | | | 1710 | | | |
| 25 | Pro | His | Phe | Asn | Pro | Asp | Leu | Thr | Asp | Tyr | Tyr | Leu | Asp | Tyr | Ser |
| | | 1715 | | | | | 1720 | | | | | 1725 | | | |
| 30 | Asp | Gly | Lys | Ile | Pro | Glu | Val | Thr | Ala | Ser | Ile | Thr | Asn | Asn | Gly |
| | | 1730 | | | | | 1735 | | | | | 1740 | | | |
| 35 | Leu | Ala | Thr | Val | Val | Pro | Ser | Val | Lys | Glu | Gly | Asp | Pro | Val | Arg |
| | | 1745 | | | | | 1750 | | | | | 1755 | | | |
| 40 | Val | Ile | Val | Lys | Ala | Glu | Asn | Gly | Asp | Ile | Leu | Gly | Glu | Tyr | Asn |
| | | 1760 | | | | | 1765 | | | | | 1770 | | | |
| 45 | Leu | His | Phe | Thr | Lys | Asp | Lys | Asp | Leu | Leu | Ala | Arg | Lys | Pro | Ile |
| | | 1775 | | | | | 1780 | | | | | 1785 | | | |
| 50 | Ala | Ser | Ala | Lys | Gln | Ser | Gln | Leu | Leu | Gln | Leu | Gly | Gln | Pro | Leu |
| | | 1790 | | | | | 1795 | | | | | 1800 | | | |
| 55 | Glu | Leu | Pro | Asn | Lys | Val | Pro | Val | Tyr | Phe | Ala | Gly | Lys | Ser | Gly |
| | | 1805 | | | | | 1810 | | | | | 1815 | | | |
| 60 | Tyr | Asp | Val | Lys | Asp | Leu | Ala | Val | Glu | Trp | Glu | Lys | Val | Pro | Ala |
| | | 1820 | | | | | 1825 | | | | | 1830 | | | |
| 65 | Ser | Thr | Leu | Asn | Lys | Ala | Gly | Glu | Tyr | Thr | Ile | Lys | Gly | His | Val |
| | | 1835 | | | | | 1840 | | | | | 1845 | | | |
| | Val | Gly | Ser | Glu | Val | Pro | Val | Glu | Leu | Ser | Val | Arg | Val | Thr | Asp |
| | | 1850 | | | | | 1855 | | | | | 1860 | | | |
| | Lys | Val | Gly | Arg | Ser | Leu | Ser | Asp | Asn | Pro | Asp | Tyr | Leu | Ala | Thr |
| | | 1865 | | | | | 1870 | | | | | 1875 | | | |

ES 2 352 704 A1

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|----|-----|------|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|
| | His | Ser | Gln | Ala | Phe | Ala | Ser | Ala | Thr | Asn | Asp | Leu | Asp | Asp | Asn |
| | | 1880 | | | | | 1885 | | | | | 1890 | | | |
| 5 | Ser | Asn | Asp | Arg | Val | Asp | Tyr | Leu | Asn | Asp | Asn | Asp | Arg | Asn | Gln |
| | | 1895 | | | | | 1900 | | | | | 1905 | | | |
| 10 | Asp | Asn | Arg | Trp | Thr | Asn | Trp | Ser | Ala | Thr | Pro | Ser | Ala | Asn | Pro |
| | | 1910 | | | | | 1915 | | | | | 1920 | | | |
| 15 | Glu | Val | Ser | Val | Gly | Val | Ile | Phe | Lys | Lys | Asn | Gly | Lys | Ile | Val |
| | | 1925 | | | | | 1930 | | | | | 1935 | | | |
| 20 | Asp | Arg | Lys | Val | Ser | Gln | Ala | Lys | Leu | Asn | Phe | Phe | Ala | Asp | Ser |
| | | 1940 | | | | | 1945 | | | | | 1950 | | | |
| 25 | Gly | Thr | Asp | Ala | Pro | Ala | Lys | Leu | Val | Leu | Glu | Arg | Tyr | Ile | Gly |
| | | 1955 | | | | | 1960 | | | | | 1965 | | | |
| 30 | Pro | Asp | Phe | Asp | Val | Pro | Val | Tyr | Tyr | Ser | Asn | Tyr | Ser | Tyr | Glu |
| | | 1970 | | | | | 1975 | | | | | 1980 | | | |
| 35 | Ser | Asn | His | Pro | Phe | Asn | Asn | Pro | Asp | Asn | Trp | Glu | Leu | Val | Pro |
| | | 1985 | | | | | 1990 | | | | | 1995 | | | |
| 40 | Tyr | Tyr | Ala | Asp | Lys | Glu | Ile | Gln | Ala | Gly | Asn | Glu | Ile | Asn | Val |
| | | 2000 | | | | | 2005 | | | | | 2010 | | | |
| 45 | Thr | Phe | Lys | Ala | Val | Thr | Thr | Lys | Ala | Met | Arg | Trp | Arg | Met | Asp |
| | | 2015 | | | | | 2020 | | | | | 2025 | | | |
| 50 | Arg | Lys | Ala | Asp | Lys | Asn | Gly | Val | Ala | Leu | Thr | Glu | Leu | Ser | Phe |
| | | 2030 | | | | | 2035 | | | | | 2040 | | | |
| 55 | Arg | Ala | Pro | Ser | Glu | Leu | Ala | Lys | Glu | Ser | Thr | Glu | Gly | Arg | Ile |
| | | 2045 | | | | | 2050 | | | | | 2055 | | | |
| 60 | Leu | Val | Asp | Gly | Lys | Glu | Leu | Pro | Asp | Phe | Ser | Glu | Asn | Arg | Leu |
| | | 2060 | | | | | 2065 | | | | | 2070 | | | |
| 65 | Asp | Tyr | Glu | Leu | Ile | Tyr | Lys | Gly | Glu | Arg | Pro | Lys | Ile | Thr | Val |
| | | 2075 | | | | | 2080 | | | | | 2085 | | | |
| 70 | Glu | Gly | Lys | Asp | Gln | Val | Thr | Ser | Thr | Ile | Val | Asp | Ser | Gly | Asn |
| | | 2090 | | | | | 2095 | | | | | 2100 | | | |
| 75 | Glu | Asn | Leu | Pro | Val | Leu | Val | Arg | Leu | Val | Ser | Glu | Ser | Gly | Lys |
| | | 2105 | | | | | 2110 | | | | | 2115 | | | |
| 80 | Asn | Val | Lys | Glu | Tyr | Arg | Ile | Lys | Leu | Thr | Lys | Glu | Lys | Val | Ile |
| | | 2120 | | | | | 2125 | | | | | 2130 | | | |

ES 2 352 704 A1

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|----|------|-----|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|
| | Asp | Ala | Lys | Leu | Val | Ala | Pro | Ala | Gln | Tyr | Asp | Leu | Pro | Ser | Leu |
| | 2135 | | | | | | 2140 | | | | | 2145 | | | |
| 5 | Glu | Val | Val | Asp | Lys | Glu | Leu | Asn | Phe | Gln | Thr | Leu | Glu | Gln | Lys |
| | 2150 | | | | | | 2155 | | | | | 2160 | | | |
| 10 | Asp | Asp | Thr | Leu | Phe | Glu | Gly | Glu | Val | Arg | Leu | Leu | Gln | Glu | Gly |
| | 2165 | | | | | | 2170 | | | | | 2175 | | | |
| 15 | Lys | Val | Gly | Lys | Glu | Arg | Ile | Tyr | Thr | Glu | Val | Thr | Thr | Asp | Gly |
| | 2180 | | | | | | 2185 | | | | | 2190 | | | |
| 20 | Lys | Asn | Lys | Glu | Lys | Ser | Arg | Glu | Ile | Leu | Glu | Glu | Pro | Val | Asn |
| | 2195 | | | | | | 2200 | | | | | 2205 | | | |
| 25 | Arg | Ile | Leu | Leu | Val | Gly | Thr | Lys | Lys | Lys | Thr | Ser | Asn | Ile | Glu |
| | 2210 | | | | | | 2215 | | | | | 2220 | | | |
| 30 | Thr | Pro | Ala | Gly | Gly | His | Gln | Asp | Asn | Gly | Ser | Ser | Gln | Pro | Thr |
| | 2225 | | | | | | 2230 | | | | | 2235 | | | |
| 35 | Glu | Gln | Lys | Pro | Gly | Ala | Asn | Pro | Asn | Pro | Asn | Ile | Val | Ile | Pro |
| | 2240 | | | | | | 2245 | | | | | 2250 | | | |
| 40 | Asn | Pro | Ser | Asn | Asn | Gly | Val | Thr | Ser | Asn | Ser | Ser | Asp | Phe | Lys |
| | 2255 | | | | | | 2260 | | | | | 2265 | | | |
| 45 | Asn | His | Leu | Ser | Val | Ala | Pro | Asn | Ile | Val | Ile | Gln | Ala | Pro | Thr |
| | 2270 | | | | | | 2275 | | | | | 2280 | | | |
| 50 | Gln | Glu | Ser | Lys | Lys | Pro | Gly | Trp | Asn | Lys | Glu | Asp | Gly | Lys | Trp |
| | 2285 | | | | | | 2290 | | | | | 2295 | | | |
| 55 | Tyr | Tyr | Arg | Gln | Gln | Asn | Gly | Asp | Leu | Ala | Lys | Gly | Trp | Val | Lys |
| | 2300 | | | | | | 2305 | | | | | 2310 | | | |
| 60 | Asp | Gly | Asp | Thr | Trp | Tyr | Tyr | Phe | Asp | Gln | Thr | Gly | Lys | Met | Glu |
| | 2315 | | | | | | 2320 | | | | | 2325 | | | |
| 65 | Thr | Gly | Trp | Ile | Lys | Asp | Gln | Ser | Gly | Ala | Trp | Tyr | Tyr | Leu | Asn |
| | 2330 | | | | | | 2335 | | | | | 2340 | | | |
| 70 | Gln | Ser | Gly | Ala | Met | Ser | Ser | Asn | Glu | Trp | Ile | Leu | Asp | Gln | Asp |
| | 2345 | | | | | | 2350 | | | | | 2355 | | | |
| 75 | Gly | Lys | Trp | Tyr | Tyr | Val | Asp | Ala | Ser | Gly | Ser | Met | Lys | Thr | Ser |
| | 2360 | | | | | | 2365 | | | | | 2370 | | | |

ES 2 352 704 A1

Gln Trp Phe Gln Val Gly Asp Lys Trp Tyr Tyr Val Asp Ala Asn
2375 2380 2385

5 Gly Ser Leu Ala Val Asn Thr Val Thr Pro Asp Gly Tyr Gln Val
2390 2395 2400

10 Asn Glu Asn Gly Glu Trp Ile Gly
2405 2410

<210> 3

<211> 7101

15 <212> DNA

<213> Artificial

<220>

20 <223> beta-galactosidasa sin péptido señal

<220>

<221> CDS

25 <222> (1)..(7101)

<223> beta-galactosidasa sin péptido señal

<400> 3

30 atg gaa aat gct gaa gaa att gtg tta aca aat agg act gag cac cag
48 Met Glu Asn Ala Glu Glu Ile Val Leu Thr Asn Arg Thr Glu His Gln

35 1 5 10 15

tct gaa aac ctg aaa act act gga ctc tca agt gaa cat aaa gct gaa
96 Ser Glu Asn Leu Lys Thr Thr Gly Leu Ser Ser Glu His Lys Ala Glu

40 20 25 30

45 ggt gtt acg act gaa aaa gca agt gag caa cct gtt aaa gct gaa aat
144 Gly Val Thr Thr Glu Lys Ala Ser Glu Gln Pro Val Lys Ala Glu Asn

35 40 45

50 gta tct cta aag gaa aat gcg gat ggt agt gat gca gta gta aaa cct
192 Val Ser Leu Lys Glu Asn Ala Asp Gly Ser Asp Ala Val Val Lys Pro

55 50 55 60

cac gca gat caa cct tta gtt tca gtt gcc aat aat caa tca gtt cct
240 His Ala Asp Gln Pro Leu Val Ser Val Ala Asn Asn Gln Ser Val Pro

60 65 70 75 80

tta gaa gaa ggt aag gct gaa gtc gaa aac aaa aca gaa gaa agg aac
288 Leu Glu Glu Gly Lys Ala Glu Val Glu Asn Lys Thr Glu Glu Arg Asn

65

ES 2 352 704 A1

| | 85 | 90 | 95 |
|----|---|-----|-----|
| 5 | aag cct gag gat aga aat aag ctt gaa gaa aca aat aag act gag gta 336 Lys Pro Glu Asp Arg Asn Lys Leu Glu Glu Thr Asn Lys Thr Glu Val | | |
| | 100 | 105 | 110 |
| 10 | acg gat aaa tct gaa gat aaa aat aaa tct gaa gaa aca aat aaa gca 384 Thr Asp Lys Ser Glu Asp Lys Asn Lys Ser Glu Glu Thr Asn Lys Ala | | |
| 15 | 115 | 120 | 125 |
| 20 | gaa tca caa gat cgt tct gtt tca aaa gat aag caa gaa ttc aaa tct 432 Glu Ser Gln Asp Arg Ser Val Ser Lys Asp Lys Gln Glu Phe Lys Ser | | |
| | 130 | 135 | 140 |
| 25 | gct acg aat gaa gta gtt gat aag tta att gaa gat aga aac att tcc 480 Ala Thr Asn Glu Val Val Asp Lys Leu Ile Glu Asp Arg Asn Ile Ser | | |
| 30 | 145 | 150 | 155 |
| | 160 | | |
| 35 | ttc aac cag aat tgg cac ttt aaa cta aat gcc aat gca aag gaa gct 528 Phe Asn Gln Asn Trp His Phe Lys Leu Asn Ala Asn Ala Lys Glu Ala | | |
| | 165 | 170 | 175 |
| 40 | gta aaa cca gac gca gat att tct tca tgg aaa aaa atg gat ctt cct 576 Val Lys Pro Asp Ala Asp Ile Ser Ser Trp Lys Lys Met Asp Leu Pro | | |
| | 180 | 185 | 190 |
| 45 | cat gac tgg agt att cat ttt gat ttt gac cat gat tca cca gct caa 624 His Asp Trp Ser Ile His Phe Asp Phe Asp His Asp Ser Pro Ala Gln | | |
| 50 | 195 | 200 | 205 |
| 55 | aac gaa ggc ggt caa ttg aat ggt gga gat ggc tgg tat cgg aaa acc 672 Asn Glu Gly Gly Gln Leu Asn Gly Gly Asp Gly Trp Tyr Arg Lys Thr | | |
| | 210 | 215 | 220 |
| 60 | ttt aag tta gat gaa aag gac ttg aat aaa gat gtt cgt gta acc ttt 720 Phe Lys Leu Asp Glu Lys Asp Leu Asn Lys Asp Val Arg Val Thr Phe | | |
| | 225 | 230 | 235 |
| 65 | | | 240 |

ES 2 352 704 A1

| | | | |
|----|---|-----|-----|
| | gat ggt gtt tac atg gat tca caa gta ttc gtc aat ggc caa cta gtt 768 | | |
| | Asp Gly Val Tyr Met Asp Ser Gln Val Phe Val Asn Gly Gln Leu Val | | |
| 5 | 245 | 250 | 255 |
| | ggt cac tat cca aat ggt tac aat caa ttt tca tat gac att agt aac 816 | | |
| 10 | Gly His Tyr Pro Asn Gly Tyr Asn Gln Phe Ser Tyr Asp Ile Ser Asn | | |
| | 260 | 265 | 270 |
| | tat ctc cat aaa gat ggg cga gaa aat gtc att tct gtt cat gca gtt 864 | | |
| 15 | Tyr Leu His Lys Asp Gly Arg Glu Asn Val Ile Ser Val His Ala Val | | |
| | 275 | 280 | 285 |
| 20 | | | |
| | aat aag caa cca agt agt aga tgg tat tca gga agt ggt atc tat cga 912 | | |
| 25 | Asn Lys Gln Pro Ser Ser Arg Trp Tyr Ser Gly Ser Gly Ile Tyr Arg | | |
| | 290 | 295 | 300 |
| | gac gta tca ttg cag gta aca gac aag att cat gtt gaa aag aat ggg 960 | | |
| 30 | Asp Val Ser Leu Gln Val Thr Asp Lys Ile His Val Glu Lys Asn Gly | | |
| | 305 | 310 | 315 |
| 35 | | | |
| | aca act att cta act cca aaa cta gaa agt caa caa gga gga aaa gtt 1008 | | |
| 40 | Thr Thr Ile Leu Thr Pro Lys Leu Glu Ser Gln Gln Gly Gly Lys Val | | |
| | 325 | 330 | 335 |
| | gaa acc caa gta agc agt aaa att gtt aat aca gat aat aaa gac cat 1056 | | |
| 45 | Glu Thr Gln Val Ser Ser Lys Ile Val Asn Thr Asp Asn Lys Asp His | | |
| | 340 | 345 | 350 |
| | gaa att gta gca gag tat caa att ttt gaa cga ggt ggt aag gca gtt 1104 | | |
| 50 | Glu Ile Val Ala Glu Tyr Gln Ile Phe Glu Arg Gly Gly Lys Ala Val | | |
| | 355 | 360 | 365 |
| 55 | | | |
| | aca gaa ctt gtt cga act gag agt aaa act cta aaa gct aag gaa acc 1152 | | |
| 60 | Thr Glu Leu Val Arg Thr Glu Ser Lys Thr Leu Lys Ala Lys Glu Thr | | |
| | 370 | 375 | 380 |
| | att cat ttg gat tca gca tta gag gtt gaa aaa cca aaa ttg tgg aca 1200 | | |
| 65 | Ile His Leu Asp Ser Ala Leu Glu Val Glu Lys Pro Lys Leu Trp Thr | | |

ES 2 352 704 A1

| | | | | |
|----|--|-----|-----|-----|
| | 385 | 390 | 395 | 400 |
| 5 | gtg tca tct gac aaa cct gct tta tat gag atg gta act cgt gtt tac 1248 Val Ser Ser Asp Lys Pro Ala Leu Tyr Glu Met Val Thr Arg Val Tyr | | | |
| | 405 | 410 | 415 | |
| 10 | aaa gat ggt cag ctt gta gat gca aag aaa gat tta ttt ggt tat cgc 1296 Lys Asp Gly Gln Leu Val Asp Ala Lys Lys Asp Leu Phe Gly Tyr Arg | | | |
| 15 | 420 | 425 | 430 | |
| 20 | tac tat aac tgg act cca gac caa ggg ttc tct tta aat ggt gaa cac 1344 Tyr Tyr Asn Trp Thr Pro Asp Gln Gly Phe Ser Leu Asn Gly Glu His | | | |
| | 435 | 440 | 445 | |
| 25 | atc aag ttc cac ggt gtt tca ttg cac cat gat cat gga gcg cta gga 1392 Ile Lys Phe His Gly Val Ser Leu His His Asp His Gly Ala Leu Gly | | | |
| 30 | 450 | 455 | 460 | |
| 35 | gca gaa gaa aac tat aag gca gaa tat cgt cgt ctg aaa caa atg aag 1440 Ala Glu Glu Asn Tyr Lys Ala Glu Tyr Arg Arg Leu Lys Gln Met Lys | | | |
| | 465 | 470 | 475 | 480 |
| 40 | gaa atg gga gtg aat tcg att cgt acg act cac aac cca gca agt cct 1488 Glu Met Gly Val Asn Ser Ile Arg Thr Thr His Asn Pro Ala Ser Pro | | | |
| | 485 | 490 | 495 | |
| 45 | cag acc ttg cag att gca gct gag ctc ggt ttg ctt gtt caa gaa gaa 1536 Gln Thr Leu Gln Ile Ala Ala Glu Leu Gly Leu Leu Val Gln Glu Glu | | | |
| 50 | 500 | 505 | 510 | |
| 55 | gct ttt gat act tgg tat gga ggt aag aaa cca tac gac tat ggt cgt 1584 Ala Phe Asp Thr Trp Tyr Gly Gly Lys Lys Pro Tyr Asp Tyr Gly Arg | | | |
| | 515 | 520 | 525 | |
| 60 | ttc ttt gaa aaa gat gct acc cac cct gaa gca aga aaa ggt gaa aaa 1632 Phe Phe Glu Lys Asp Ala Thr His Pro Glu Ala Arg Lys Gly Glu Lys | | | |
| 65 | 530 | 535 | 540 | |

ES 2 352 704 A1

5 **1680**
 tgg tcc gac tac gat ctt cga aca atg gta gaa aga gat aaa aac aat
 Trp Ser Asp Tyr Asp Leu Arg Thr Met Val Glu Arg Asp Lys Asn Asn
 545 550 555 560

10 **1728**
 cct gct gtt gtt atg tgg tct att ggt aac gaa atc ggt gaa gca gat
 Pro Ala Val Val Met Trp Ser Ile Gly Asn Glu Ile Gly Glu Ala Asp
 565 570 575

15 **1776**
 ggg aaa gcc cat tca ctg gta act gtc aaa cgt ttg gtc aaa gtg gtg
 Gly Lys Ala His Ser Leu Val Thr Val Lys Arg Leu Val Lys Val Val
 580 585 590

20 **1824**
 aaa tct gtt gat aag aca cgt tat gta acc atg gga gct gat aaa ttc
 Lys Ser Val Asp Lys Thr Arg Tyr Val Thr Met Gly Ala Asp Lys Phe
 595 600 605

25 **1872**
 cgt ttc gga gat gga act ggg gac cat gaa aag att gca gat gaa ctg
 Arg Phe Gly Asp Gly Thr Gly Asp His Glu Lys Ile Ala Asp Glu Leu
 610 615 620

30 **1920**
 gat gca gtt gga ttg aat tac tct gaa gaa aat tat caa act ctt cat
 Asp Ala Val Gly Leu Asn Tyr Ser Glu Glu Asn Tyr Gln Thr Leu His
 625 630 635 640

35 **1968**
 gcg aaa cat ccg aaa tgg ctc atc tat ggt tca gaa aca tct tca gca
 Ala Lys His Pro Lys Trp Leu Ile Tyr Gly Ser Glu Thr Ser Ser Ala
 645 650 655

40 **2016**
 act cgt aca aga gga agt tat ttc cat cca gag agt gag tgg gta gga
 Thr Arg Thr Arg Gly Ser Tyr Phe His Pro Glu Ser Glu Trp Val Gly
 660 665 670

45 **2064**
 agt aac caa tat tgg cgt aat tac gaa caa tcc gat tat ggt aat gat
 Ser Asn Gln Tyr Trp Arg Asn Tyr Glu Gln Ser Asp Tyr Gly Asn Asp
 675 680 685

50 **2112**
 cgt gtt ggt tgg ggt aaa act gct aca gca tca tgg acc ttc gat aga
 685 690 695

ES 2 352 704 A1

| | | |
|----|---|-----|
| | Arg Val Gly Trp Gly Lys Thr Ala Thr Ala Ser Trp Thr Phe Asp Arg | |
| | 690 | 700 |
| 5 | | |
| | gat cat cca gga tac gct gga caa ttc att tgg acc ggt acg gat tat | |
| | 2160 | |
| | Asp His Pro Gly Tyr Ala Gly Gln Phe Ile Trp Thr Gly Thr Asp Tyr | |
| 10 | 705 | 720 |
| | | |
| | att ggt gaa cca aca cca tgg cac aat caa aat agt aca cca gta aaa | |
| | 2208 | |
| 15 | Ile Gly Glu Pro Thr Pro Trp His Asn Gln Asn Ser Thr Pro Val Lys | |
| | 725 | 735 |
| | | |
| 20 | agt tcc tac ttt ggt att gtt gat acc gca ggt att cca aaa aat gac | |
| | 2256 | |
| | Ser Ser Tyr Phe Gly Ile Val Asp Thr Ala Gly Ile Pro Lys Asn Asp | |
| 25 | 740 | 750 |
| | | |
| | tat tat ctc tac caa agt cag tgg gtt tct gcc aag aaa aaa cca atg | |
| | 2304 | |
| 30 | Tyr Tyr Leu Tyr Gln Ser Gln Trp Val Ser Ala Lys Lys Lys Pro Met | |
| | 755 | 765 |
| | | |
| | gtt cat tta ctt cct cac tgg aac tgg gaa aag act gaa ttg gca gat | |
| | 2352 | |
| 35 | Val His Leu Leu Pro His Trp Asn Trp Glu Lys Thr Glu Leu Ala Asp | |
| | 770 | 780 |
| | | |
| 40 | aat gtt gca gac gct gaa aat cga att cca gtt aga gct tat tcc aat | |
| | 2400 | |
| | Asn Val Ala Asp Ala Glu Asn Arg Ile Pro Val Arg Ala Tyr Ser Asn | |
| 45 | 785 | 800 |
| | | |
| | gct gcc agt gtt gag ttg ttc tta aat aat gag tca cta ggt ctt aaa | |
| | 2448 | |
| 50 | Ala Ala Ser Val Glu Leu Phe Leu Asn Asn Glu Ser Leu Gly Leu Lys | |
| | 805 | 815 |
| | | |
| | aaa ttc aac aaa aaa caa aca agt gac ggt cga aca tat caa gaa ggt | |
| | 2496 | |
| 55 | Lys Phe Asn Lys Lys Gln Thr Ser Asp Gly Arg Thr Tyr Gln Glu Gly | |
| | 820 | 830 |
| 60 | | |
| | gaa aat cct caa gaa cta tac ttg gag tgg aaa gta gct tat aaa ccg | |
| | 2544 | |
| 65 | Glu Asn Pro Gln Glu Leu Tyr Leu Glu Trp Lys Val Ala Tyr Lys Pro | |
| | 835 | 845 |

ES 2 352 704 A1

5 gga act ttg gaa gct gta gct cga gat gag tct ggc aag gaa att gct
 2592
 Gly Thr Leu Glu Ala Val Ala Arg Asp Glu Ser Gly Lys Glu Ile Ala
 850 855 860

10 cgt gat aag att gta act gct ggt gaa cct gca ggt gtc cgt ttg gtt
 2640
 Arg Asp Lys Ile Val Thr Ala Gly Glu Pro Ala Gly Val Arg Leu Val
 865 870 875 880

15 aag gaa gaa aat gca atc gct gca gat gga aaa gat ttg act tat atc
 2688
 Lys Glu Glu Asn Ala Ile Ala Ala Asp Gly Lys Asp Leu Thr Tyr Ile
 885 890 895

20 tat tac gaa att gta gat agc aag ggt aat gtt gtg cca act gct aac
 2736
 Tyr Tyr Glu Ile Val Asp Ser Lys Gly Asn Val Val Pro Thr Ala Asn
 900 905 910

25 aat cta gtt cac ttc caa ctt cat gga caa ggt caa ctg gtt ggt gtg
 2784
 Asn Leu Val His Phe Gln Leu His Gly Gln Gly Gln Leu Val Gly Val
 915 920 925

30 gat aat ggt gag caa gct agt cgt gaa cgt tat aaa gaa caa gca gat
 2832
 Asp Asn Gly Glu Gln Ala Ser Arg Glu Arg Tyr Lys Glu Gln Ala Asp
 930 935 940

35 ggt tct tgg att cgt aga gcc ttt aat ggt aaa ggg gta gcg att gtt
 2880
 Gly Ser Trp Ile Arg Arg Ala Phe Asn Gly Lys Gly Val Ala Ile Val
 945 950 955 960

40 aaa tcg act gat caa gca ggt aaa ttt acc ctt aca gca tat tca ggc
 2928
 Lys Ser Thr Asp Gln Ala Gly Lys Phe Thr Leu Thr Ala Tyr Ser Gly
 965 970 975

45 ttg ttg aaa tca gat caa gtt aca gtt ttt aca ggt aag tca gac cag
 2976
 Leu Leu Lys Ser Asp Gln Val Thr Val Phe Thr Gly Lys Ser Asp Gln
 980 985 990

50 tca gaa aaa act gtt tta gga aca gaa ata cca aaa gtt cgg aca gtt
 3024
 Tyr Tyr Glu Ile Val Asp Ser Lys Gly Asn Val Val Pro Thr Ala Asn
 995 1000 1005

ES 2 352 704 A1

3024

Ser Glu Lys Thr Val Leu Gly Thr Glu Ile Pro Lys Val Arg Thr Val

995

1000

1005

5

tta gga caa aaa ctt aaa atg cct cag aca gtg cca ttt gta tat

3069

Leu Gly Gln Lys Leu Lys Met Pro Gln Thr Val Pro Phe Val Tyr

10

1010

1015

1020

agt gat ggt agt cgt gaa aaa cgt cct gta acc tgg tct caa gca

3114

Ser Asp Gly Ser Arg Glu Lys Arg Pro Val Thr Trp Ser Gln Ala

15

1025

1030

1035

gat gtc agt caa gct gga att gta act gta aaa ggt atg tct gat

3159

Asp Val Ser Gln Ala Gly Ile Val Thr Val Lys Gly Met Ser Asp

20

1040

1045

1050

gga cgt gaa gtt gag gct cgt gtt gaa gta ctt aca gtt gcg aat

3204

Gly Arg Glu Val Glu Ala Arg Val Glu Val Leu Thr Val Ala Asn

30

1055

1060

1065

gaa ctt cca gct gtt aaa cgc atc aca cct gga aca gac ttg agt

3249

Glu Leu Pro Ala Val Lys Arg Ile Thr Pro Gly Thr Asp Leu Ser

35

1070

1075

1080

tct gtg gat aaa ctt gtt tca ctt gtt tca aca gat ggt cgt att

3294

Ser Val Asp Lys Leu Val Ser Leu Val Ser Thr Asp Gly Arg Ile

40

1085

1090

1095

cac aat tat gaa gtt gaa aat tgg gaa att tca cca gaa gat aaa

3339

His Asn Tyr Glu Val Glu Asn Trp Glu Ile Ser Pro Glu Asp Lys

45

1100

1105

1110

gag aag tta tct act ccg ggg gca cat att cag atg act agc caa

3384

Glu Lys Leu Ser Thr Pro Gly Ala His Ile Gln Met Thr Ser Gln

50

1115

1120

1125

tta gga gat aga acc atc cac gct act ttg ata gtt gat gat ggt

3429

Leu Gly Asp Arg Thr Ile His Ala Thr Leu Ile Val Asp Asp Gly

55

ES 2 352 704 A1

| | | | |
|----|--|------|------|
| | 1130 | 1135 | 1140 |
| 5 | aag gaa ttg tct caa gtt aca cca aat ata gca gta ggt ggt gaa 3474 Lys Glu Leu Ser Gln Val Thr Pro Asn Ile Ala Val Gly Gly Glu | | |
| | 1145 | 1150 | 1155 |
| 10 | agt gtt acg gaa ctt tca aaa gag cat cct gta cat tat cac aaa 3519 Ser Val Thr Glu Leu Ser Lys Glu His Pro Val His Tyr His Lys | | |
| 15 | 1160 | 1165 | 1170 |
| 20 | ctt tct tat gga gca aaa att cca gaa gtc agt gct agt gct gaa 3564 Leu Ser Tyr Gly Ala Lys Ile Pro Glu Val Ser Ala Ser Ala Glu | | |
| | 1175 | 1180 | 1185 |
| 25 | aat gcc gat gtg aac gtg att cag gca aat gaa tcc aat gga atg 3609 Asn Ala Asp Val Asn Val Ile Gln Ala Asn Glu Ser Asn Gly Met | | |
| 30 | 1190 | 1195 | 1200 |
| 35 | cgt gct agt atc tac att cag cct aaa gac ggg gga cag tta caa 3654 Arg Ala Ser Ile Tyr Ile Gln Pro Lys Asp Gly Gly Gln Leu Gln | | |
| | 1205 | 1210 | 1215 |
| 40 | acc tat gct gtt cag ttc ctt gtt gat tct cca caa att gaa agc 3699 Thr Tyr Ala Val Gln Phe Leu Val Asp Ser Pro Gln Ile Glu Ser | | |
| | 1220 | 1225 | 1230 |
| 45 | ttg agt ctc aga gtg gat caa gta tct agc ctc aaa gaa gat caa 3744 Leu Ser Leu Arg Val Asp Gln Val Ser Ser Leu Lys Glu Asp Gln | | |
| 50 | 1235 | 1240 | 1245 |
| 55 | act gtt aaa gtg aca gtt tta gcc cgt tat cag gat gga act gaa 3789 Thr Val Lys Val Thr Val Leu Ala Arg Tyr Gln Asp Gly Thr Glu | | |
| | 1250 | 1255 | 1260 |
| 60 | gct att tta cca act gat aag gtg act ttc tca agc caa ggc gag 3834 Ala Ile Leu Pro Thr Asp Lys Val Thr Phe Ser Ser Gln Gly Glu | | |
| 65 | 1265 | 1270 | 1275 |

ES 2 352 704 A1

| | | | | |
|----|-----------------|---------------------|---------------------|-------------|
| | gga gga | gtc tct gtt aat aag | gga atg cta gag ttg | cat aaa ccg |
| | 3879 Gly Gly | Val Ser Val Asn Lys | Gly Met Leu Glu Leu | His Lys Pro |
| 5 | 1280 | 1285 | 1290 | |
| | ggt agt | ctc act tta caa gct | caa tat gaa ggt gca | aaa gga gaa |
| | 3924 Gly Ser | Leu Thr Leu Gln Ala | Gln Tyr Glu Gly Ala | Lys Gly Glu |
| 10 | 1295 | 1300 | 1305 | |
| | ctt cct | cta acg atc gca gca | aat act gaa gat aaa | gtt gtt cag |
| | 3969 Leu Pro | Leu Thr Ile Ala Ala | Asn Thr Glu Asp Lys | Val Val Gln |
| 15 | 1310 | 1315 | 1320 | |
| | gcc att | cgc cca gtt agc ctt | gtg aca gat ttg cac | caa aca cca |
| | 4014 Ala Ile | Arg Pro Val Ser Leu | Val Thr Asp Leu His | Gln Thr Pro |
| 25 | 1325 | 1330 | 1335 | |
| | aat ctt | cca tct aca gta aca | gtt gag tac gat aaa | gga ttt cca |
| | 4059 Asn Leu | Pro Ser Thr Val Thr | Val Glu Tyr Asp Lys | Gly Phe Pro |
| 30 | 1340 | 1345 | 1350 | |
| | aaa gtt | cat aag gta gtt tgg | gat tcg att cca tct | gaa aaa tta |
| | 4104 Lys Val | His Lys Val Val Trp | Asp Ser Ile Pro Ser | Glu Lys Leu |
| 35 | 1355 | 1360 | 1365 | |
| | aat caa | tat cat act ttt gaa | gta ctt ggt aag gtt | gaa gga ttg |
| | 4149 Asn Gln | Tyr His Thr Phe Glu | Val Leu Gly Lys Val | Glu Gly Leu |
| 45 | 1370 | 1375 | 1380 | |
| | aat caa | gaa gct cgt gcg aca | gta tca gta gaa gga | att gta aaa |
| | 4194 Asn Gln | Glu Ala Arg Ala Thr | Val Ser Val Glu Gly | Ile Val Lys |
| 50 | 1385 | 1390 | 1395 | |
| | gtt gaa | gat gtg agc atc aca | aca cca att tct gag | gca cca acc |
| | 4239 Val Glu | Asp Val Ser Ile Thr | Thr Pro Ile Ser Glu | Ala Pro Thr |
| 60 | 1400 | 1405 | 1410 | |
| | ttg cca | gaa agt gtc cga act | tat tat tca aat ggc | caa gta tct |
| | 4284 Leu Pro | Glu Ser Val Arg Thr | Tyr Tyr Ser Asn Gly | Gln Val Ser |
| 65 | | | | |

ES 2 352 704 A1

| | | | |
|----|--|--|----------------------------|
| | 1415 | 1420 | 1425 |
| 5 | tca gct aag gtg gct tgg gac 4329 Ser Ala Lys Val Ala Trp Asp | act att gat gca agc Thr Ile Asp Ala Ser | cag tat gca Gln Tyr Ala |
| | 1430 | 1435 | 1440 |
| 10 | aaa gaa gga atc ttt act gta 4374 Lys Glu Gly Ile Phe Thr Val | aca ggc cat gta gaa Thr Gly His Val Glu | gga aca caa Gly Thr Gln |
| 15 | 1445 | 1450 | 1455 |
| 20 | ctg aca acg aaa tta cat gtt 4419 Leu Thr Thr Lys Leu His Val | cgt gta tcg agt caa Arg Val Ser Ser Gln | aca gaa att Thr Glu Ile |
| | 1460 | 1465 | 1470 |
| 25 | ggg aag aat att tca gat caa 4464 Gly Lys Asn Ile Ser Asp Gln | tgg aca ggt tca gaa Trp Thr Gly Ser Glu | tta cca ctt Leu Pro Leu |
| 30 | 1475 | 1480 | 1485 |
| 35 | gcc ttt gca tca gat tct cat 4509 Ala Phe Ala Ser Asp Ser His | tct tat gac cca gta Ser Tyr Asp Pro Val | tct aat gta Ser Asn Val |
| | 1490 | 1495 | 1500 |
| 40 | aat gat aaa gtg att tct tac 4554 Asn Asp Lys Val Ile Ser Tyr | ggg gat cag cct gca Gly Asp Gln Pro Ala | aat cgt tgg Asn Arg Trp |
| | 1505 | 1510 | 1515 |
| 45 | tca aac tgg aaa cgt tct gaa 4599 Ser Asn Trp Lys Arg Ser Glu | gaa gct tca gta ggg Glu Ala Ser Val Gly | gta ctc ttt Val Leu Phe |
| 50 | 1520 | 1525 | 1530 |
| 55 | gga gat tca ggt att ttg aca 4644 Gly Asp Ser Gly Ile Leu Thr | aaa cgt tcg gtc gat Lys Arg Ser Val Asp | aac ttg aat Asn Leu Asn |
| | 1535 | 1540 | 1545 |
| 60 | gta gca ttt tat gaa gat agc 4689 Val Ala Phe Tyr Glu Asp Ser | ggg gta ggt gct cca Gly Val Gly Ala Pro | aaa tct tac Lys Ser Tyr |
| | 1550 | 1555 | 1560 |
| 65 | | | |

ES 2 352 704 A1

| | | | | |
|----|----------------------------|--|--|----------------------------|
| 5 | gtc att 4734 Val Ile | gag tat tat gtt ggt Glu Tyr Tyr Val Gly | gaa aaa gct cca act Glu Lys Ala Pro Thr | gca ccg aag Ala Pro Lys |
| | 1565 | 1570 | 1575 | |
| 10 | aat cct 4779 Asn Pro | ggg tat gta gag ggt Gly Tyr Val Glu Gly | gaa aac cac gta ttt Glu Asn His Val Phe | aat gac agt Asn Asp Ser |
| | 1580 | 1585 | 1590 | |
| 15 | aaa aat 4824 Lys Asn | tgg aaa cca gtc aca Trp Lys Pro Val Thr | aat ctt aag gct cca Asn Leu Lys Ala Pro | gat cag tta Asp Gln Leu |
| 20 | 1595 | 1600 | 1605 | |
| 25 | aaa gct 4869 Lys Ala | gga gaa atg aat cat Gly Glu Met Asn His | ttc agt ttt gat aag Phe Ser Phe Asp Lys | gtg gat acc Val Asp Thr |
| | 1610 | 1615 | 1620 | |
| 30 | tac gcg 4914 Tyr Ala | gta cgt att cgc atg Val Arg Ile Arg Met | aca aga gct gat gat Thr Arg Ala Asp Asp | aaa ctt gga Lys Leu Gly |
| | 1625 | 1630 | 1635 | |
| 35 | aca tcc 4959 Thr Ser | att aca gaa tta caa Ile Thr Glu Leu Gln | gtt ttc tct aaa aag Val Phe Ser Lys Lys | gta gca cca Val Ala Pro |
| 40 | 1640 | 1645 | 1650 | |
| 45 | gct aaa 5004 Ala Lys | gag gca act act aac Glu Ala Thr Thr Asn | att aag gtt gct gga Ile Lys Val Ala Gly | aaa gat ctt Lys Asp Leu |
| | 1655 | 1660 | 1665 | |
| 50 | cct cac 5049 Pro His | ttt aat cca gac tta Phe Asn Pro Asp Leu | aca gat tac tat tta Thr Asp Tyr Tyr Leu | gac tat agt Asp Tyr Ser |
| 55 | 1670 | 1675 | 1680 | |
| 60 | gat gga 5094 Asp Gly | aaa att cca gaa gta Lys Ile Pro Glu Val | aca gct agt atc aca Thr Ala Ser Ile Thr | aat aat gga Asn Asn Gly |
| | 1685 | 1690 | 1695 | |
| 65 | ctt gct 5139 | aca gtg gtt cct agc gtg aaa gag ggc gat | cct gtc cgt | |

ES 2 352 704 A1

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|----|---------|-----|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|
| | Leu | Ala | Thr | Val | Val | Pro | Ser | Val | Lys | Glu | Gly | Asp | Pro | Val | Arg |
| | 1700 | | | | | | 1705 | | | | | 1710 | | | |
| 5 | gtt att | gtg | aaa | gca | gaa | aat | ggc | gat | att | ctt | gga | gaa | tac | aac | |
| | 5184 | | | | | | | | | | | | | | |
| | Val | Ile | Val | Lys | Ala | Glu | Asn | Gly | Asp | Ile | Leu | Gly | Glu | Tyr | Asn |
| 10 | 1715 | | | | | | 1720 | | | | | 1725 | | | |
| | ctt cac | ttt | aca | aaa | gat | aaa | gat | ttg | ttg | gct | cgt | aaa | cca | att | |
| | 5229 | | | | | | | | | | | | | | |
| 15 | Leu | His | Phe | Thr | Lys | Asp | Lys | Asp | Leu | Leu | Ala | Arg | Lys | Pro | Ile |
| | 1730 | | | | | | 1735 | | | | | 1740 | | | |
| | gct tct | gca | aaa | cag | tct | caa | ttg | ttg | cag | tta | ggc | caa | cct | ttg | |
| | 5274 | | | | | | | | | | | | | | |
| 20 | Ala | Ser | Ala | Lys | Gln | Ser | Gln | Leu | Leu | Gln | Leu | Gly | Gln | Pro | Leu |
| | 1745 | | | | | | 1750 | | | | | 1755 | | | |
| 25 | | | | | | | | | | | | | | | |
| | gaa ttg | cca | aat | aag | gtt | cca | gtt | tat | ttc | gca | ggc | aag | agc | ggc | |
| | 5319 | | | | | | | | | | | | | | |
| 30 | Glu | Leu | Pro | Asn | Lys | Val | Pro | Val | Tyr | Phe | Ala | Gly | Lys | Ser | Gly |
| | 1760 | | | | | | 1765 | | | | | 1770 | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | |
| | tat gac | gta | aaa | gat | ttg | gca | gtt | gaa | tg | gaa | aaa | gtc | cct | gct | |
| | 5364 | | | | | | | | | | | | | | |
| 35 | Tyr | Asp | Val | Lys | Asp | Leu | Ala | Val | Glu | Trp | Glu | Lys | Val | Pro | Ala |
| | 1775 | | | | | | 1780 | | | | | 1785 | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | |
| 40 | tct acc | tta | aac | aaa | gct | ggg | gaa | tat | aca | att | aaa | ggc | cat | gta | |
| | 5409 | | | | | | | | | | | | | | |
| | Ser | Thr | Leu | Asn | Lys | Ala | Gly | Glu | Tyr | Thr | Ile | Lys | Gly | His | Val |
| 45 | 1790 | | | | | | 1795 | | | | | 1800 | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | |
| | gtt ggt | agt | gag | gtc | cca | gta | gaa | tta | tct | gtt | cga | gta | acg | gac | |
| | 5454 | | | | | | | | | | | | | | |
| 50 | Val | Gly | Ser | Glu | Val | Pro | Val | Glu | Leu | Ser | Val | Arg | Val | Thr | Asp |
| | 1805 | | | | | | 1810 | | | | | 1815 | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | |
| | aag gtc | ggc | aga | tca | ctt | tct | gat | aat | cca | gat | tat | ctt | gct | act | |
| | 5499 | | | | | | | | | | | | | | |
| 55 | Lys | Val | Gly | Arg | Ser | Leu | Ser | Asp | Asn | Pro | Asp | Tyr | Leu | Ala | Thr |
| | 1820 | | | | | | 1825 | | | | | 1830 | | | |
| 60 | | | | | | | | | | | | | | | |
| | cat agt | cag | gct | ttt | gct | tca | gct | act | aat | gat | ttg | gat | gat | aat | |
| | 5544 | | | | | | | | | | | | | | |
| 65 | His | Ser | Gln | Ala | Phe | Ala | Ser | Ala | Thr | Asn | Asp | Leu | Asp | Asp | Asn |
| | 1835 | | | | | | 1840 | | | | | 1845 | | | |

ES 2 352 704 A1

| | |
|----|---|
| | tcg aac gac cgt gta gac tat tta aat gat aat gac cga aat caa |
| | 5589 Ser Asn Asp Arg Val Asp Tyr Leu Asn Asp Asn Asp Arg Asn Gln |
| 5 | 1850 1855 1860 |
| | gac aac cgt tgg aca aac tgg tcc gct act cca tct gct aat cca |
| | 5634 Asp Asn Arg Trp Thr Asn Trp Ser Ala Thr Pro Ser Ala Asn Pro |
| 10 | 1865 1870 1875 |
| | gaa gta tca gtt ggt gtt atc ttt aaa aag aat ggt aaa att gtg |
| | 5679 Glu Val Ser Val Gly Val Ile Phe Lys Lys Asn Gly Lys Ile Val |
| 15 | 1880 1885 1890 |
| | gat aga aag gtt tca caa gct aaa cta aac ttc ttt gca gat agt |
| | 5724 Asp Arg Lys Val Ser Gln Ala Lys Leu Asn Phe Phe Ala Asp Ser |
| 20 | 1895 1900 1905 |
| | gga aca gat gcc cca gct aaa ctc gta ttg gaa cga tac atc ggt |
| | 5769 Gly Thr Asp Ala Pro Ala Lys Leu Val Leu Glu Arg Tyr Ile Gly |
| 25 | 1910 1915 1920 |
| | cct gac ttt gat gtt ccg gtt tac tat tca aac tac agc tac gaa |
| | 5814 Pro Asp Phe Asp Val Pro Val Tyr Tyr Ser Asn Tyr Ser Tyr Glu |
| 30 | 1925 1930 1935 |
| | tca aat cat cca ttt aat aac cct gat aat tgg gaa ctt gtt cct |
| | 5859 Ser Asn His Pro Phe Asn Asn Pro Asp Asn Trp Glu Leu Val Pro |
| 35 | 1940 1945 1950 |
| | tat tac gca gac aaa gaa att caa gct gga aat gag atc aat gtg |
| | 5904 Tyr Tyr Ala Asp Lys Glu Ile Gln Ala Gly Asn Glu Ile Asn Val |
| 40 | 1955 1960 1965 |
| | acc ttt aaa gct gtg act acc aaa gct atg aga tgg cgt atg gac |
| | 5949 Thr Phe Lys Ala Val Thr Thr Lys Ala Met Arg Trp Arg Met Asp |
| 45 | 1970 1975 1980 |
| | aga aaa gca gat aaa aat ggg gtt gca cta act gaa tta agt ttc |
| 50 | |
| 55 | |
| 60 | |
| 65 | |

ES 2 352 704 A1

| | | | | | | | | | | | | | | | | |
|----|---------|------|-----|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|
| | 5994 | Arg | Lys | Ala | Asp | Lys | Asn | Gly | Val | Ala | Leu | Thr | Glu | Leu | Ser | Phe |
| 5 | | 1985 | | | | | | 1990 | | | | | 1995 | | | |
| | cga gca | cca | agt | gag | ctt | gca | aaa | gag | agc | aca | gag | gga | aga | att | | |
| 10 | 6039 | Arg | Ala | Pro | Ser | Glu | Leu | Ala | Lys | Glu | Ser | Thr | Glu | Gly | Arg | Ile |
| | | 2000 | | | | | | 2005 | | | | | 2010 | | | |
| | tta gta | gat | ggt | aaa | gag | ctt | cct | gac | ttc | tct | gaa | aat | cgt | ttg | | |
| 15 | 6084 | Leu | Val | Asp | Gly | Lys | Glu | Leu | Pro | Asp | Phe | Ser | Glu | Asn | Arg | Leu |
| | | 2015 | | | | | | 2020 | | | | | 2025 | | | |
| 20 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | gac tat | gaa | ttg | att | tat | aaa | ggg | gaa | cgt | cca | aaa | atc | act | gta | | |
| | 6129 | Asp | Tyr | Glu | Leu | Ile | Tyr | Lys | Gly | Glu | Arg | Pro | Lys | Ile | Thr | Val |
| 25 | | 2030 | | | | | | 2035 | | | | | 2040 | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | gaa ggg | aaa | gat | caa | gtc | aca | tct | aca | att | gtg | gat | agt | gga | aat | | |
| 30 | 6174 | Glu | Gly | Lys | Asp | Gln | Val | Thr | Ser | Thr | Ile | Val | Asp | Ser | Gly | Asn |
| | | 2045 | | | | | | 2050 | | | | | 2055 | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 35 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | gaa aat | ctt | cct | gta | tta | gtc | cgt | ctg | gta | tca | gag | agt | ggt | aag | | |
| | 6219 | Glu | Asn | Leu | Pro | Val | Leu | Val | Arg | Leu | Val | Ser | Glu | Ser | Gly | Lys |
| | | 2060 | | | | | | 2065 | | | | | 2070 | | | |
| 40 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | aat gtc | aaa | gaa | tac | cgg | att | aaa | ttg | act | aag | gaa | aaa | gtg | ata | | |
| | 6264 | Asn | Val | Lys | Glu | Tyr | Arg | Ile | Lys | Leu | Thr | Lys | Glu | Lys | Val | Ile |
| 45 | | 2075 | | | | | | 2080 | | | | | 2085 | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 50 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | gac gca | aaa | ctt | gta | gct | cct | gct | caa | tat | gac | ttg | cct | agt | ctt | | |
| | 6309 | Asp | Ala | Lys | Leu | Val | Ala | Pro | Ala | Gln | Tyr | Asp | Leu | Pro | Ser | Leu |
| | | 2090 | | | | | | 2095 | | | | | 2100 | | | |
| 55 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | gaa gtg | gta | gac | aaa | gaa | ttg | aac | ttc | caa | act | ctt | gaa | caa | aaa | | |
| | 6354 | Glu | Val | Val | Asp | Lys | Glu | Leu | Asn | Phe | Gln | Thr | Leu | Glu | Gln | Lys |
| 60 | | 2105 | | | | | | 2110 | | | | | 2115 | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 65 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | gac gat | act | ctg | ttt | gag | gga | gaa | gtt | cgc | ctg | ttg | caa | gaa | ggt | | |
| | 6399 | Asp | Asp | Thr | Leu | Phe | Glu | Gly | Glu | Val | Arg | Leu | Leu | Gln | Glu | Gly |

ES 2 352 704 A1

| | | | |
|----|--|--|----------------------------|
| | 2120 | 2125 | 2130 |
| 5 | aaa gtt ggt aag gaa cgt atc 6444 Lys Val Gly Lys Glu Arg Ile | tat aca gaa gta acg Tyr Thr Glu Val Thr | act gat ggc Thr Asp Gly |
| | 2135 | 2140 | 2145 |
| 10 | aag aat aaa gaa aaa tca cgt 6489 Lys Asn Lys Glu Lys Ser Arg | gag att ctg gaa gaa Glu Ile Leu Glu Glu | cct gta aat Pro Val Asn |
| 15 | 2150 | 2155 | 2160 |
| 20 | aga att ctg ttg gta ggt act 6534 Arg Ile Leu Leu Val Gly Thr | aag aag aaa aca agt Lys Lys Lys Thr Ser | aac att gag Asn Ile Glu |
| | 2165 | 2170 | 2175 |
| 25 | acg ccg gcg ggt gga cat caa 6579 Thr Pro Ala Gly Gly His Gln | gac aat ggt agc agt Asp Asn Gly Ser Ser | caa cct acg Gln Pro Thr |
| 30 | 2180 | 2185 | 2190 |
| 35 | gaa caa aaa cca gga gca aat 6624 Glu Gln Lys Pro Gly Ala Asn | ccg aat cca aat att Pro Asn Pro Asn Ile | gtc att cca Val Ile Pro |
| | 2195 | 2200 | 2205 |
| 40 | aat cca tca aat aat ggt gtg 6669 Asn Pro Ser Asn Asn Gly Val | aca agt aac agt tca Thr Ser Asn Ser Ser | gat ttt aaa Asp Phe Lys |
| | 2210 | 2215 | 2220 |
| 45 | aat cat cta tca gtt gct ccg 6714 Asn His Leu Ser Val Ala Pro | aac att gtg ata caa Asn Ile Val Ile Gln | gct cct act Ala Pro Thr |
| 50 | 2225 | 2230 | 2235 |
| 55 | cag gaa agc aaa aaa cct gga 6759 Gln Glu Ser Lys Lys Pro Gly | tgg aac aag gaa gat Trp Asn Lys Glu Asp | ggg aaa tgg Gly Lys Trp |
| | 2240 | 2245 | 2250 |
| 60 | tat tat cgt caa caa aat ggg 6804 Tyr Tyr Arg Gln Gln Asn Gly | gac ttg gct aag ggt Asp Leu Ala Lys Gly | tgg gtc aaa Trp Val Lys |
| 65 | 2255 | 2260 | 2265 |

ES 2 352 704 A1

```

    gat gga  gat act tgg tat tac  ttt gat caa aca gga  aaa atg gaa
6849
Asp Gly  Asp Thr Trp Tyr Tyr  Phe Asp Gln Thr Gly  Lys Met Glu
5      2270      2275      2280

    act ggc  tgg att aaa gat caa  tca ggt gca tgg tat  tac ttg aat
6894
Thr Gly  Trp Ile Lys Asp Gln  Ser Gly Ala Trp Tyr  Tyr Leu Asn
10     2285      2290      2295

    caa tca  ggt gca atg tca tct  aat gag tgg att ttg  gat caa gat
6939
Gln Ser  Gly Ala Met Ser Ser  Asn Glu Trp Ile Leu  Asp Gln Asp
15     2300      2305      2310

    ggt aag  tgg tac tat gtt gat  gca tca ggt tcg atg  aag aca agt
6984
Gly Lys  Trp Tyr Tyr Val Asp  Ala Ser Gly Ser Met  Lys Thr Ser
25     2315      2320      2325

    caa tgg  ttc caa gtt gga gac  aaa tgg tat tat gtt  gat gca aat
7029
Gln Trp  Phe Gln Val Gly Asp  Lys Trp Tyr Tyr Val  Asp Ala Asn
30     2330      2335      2340

    gga tcc  ctt gct gtc aat aca  gta act ccg gat ggt  tat caa gta
7074
Gly Ser  Leu Ala Val Asn Thr  Val Thr Pro Asp Gly  Tyr Gln Val
35     2345      2350      2355

    aat gaa  aac ggt gag tgg atc  gga taa
7101
Asn Glu  Asn Gly Glu Trp Ile  Gly
45     2360      2365

50 <210> 4
    <211> 2366
    <212> PRT
    <213> Artificial
55
    <220>
    <223> Synthetic Construct

60 <400> 4
    Met Glu Asn Ala Glu Glu Ile Val Leu Thr Asn Arg Thr Glu His Gln
    1      5      10      15

65
    Ser Glu Asn Leu Lys Thr Thr Gly Leu Ser Ser Glu His Lys Ala Glu
    20      25      30

```

ES 2 352 704 A1

Gly Val Thr Thr Glu Lys Ala Ser Glu Gln Pro Val Lys Ala Glu Asn
 35 40 45
 5 Val Ser Leu Lys Glu Asn Ala Asp Gly Ser Asp Ala Val Val Lys Pro
 50 55 60
 10 His Ala Asp Gln Pro Leu Val Ser Val Ala Asn Asn Gln Ser Val Pro
 65 70 75 80
 15 Leu Glu Glu Gly Lys Ala Glu Val Glu Asn Lys Thr Glu Glu Arg Asn
 85 90 95
 20 Lys Pro Glu Asp Arg Asn Lys Leu Glu Glu Thr Asn Lys Thr Glu Val
 100 105 110
 25 Thr Asp Lys Ser Glu Asp Lys Asn Lys Ser Glu Glu Thr Asn Lys Ala
 115 120 125
 30 Glu Ser Gln Asp Arg Ser Val Ser Lys Asp Lys Gln Glu Phe Lys Ser
 130 135 140
 35 Ala Thr Asn Glu Val Val Asp Lys Leu Ile Glu Asp Arg Asn Ile Ser
 145 150 155 160
 40 Phe Asn Gln Asn Trp His Phe Lys Leu Asn Ala Asn Ala Lys Glu Ala
 165 170 175
 45 Val Lys Pro Asp Ala Asp Ile Ser Ser Trp Lys Lys Met Asp Leu Pro
 180 185 190
 50 His Asp Trp Ser Ile His Phe Asp Phe Asp His Asp Ser Pro Ala Gln
 195 200 205
 55 Asn Glu Gly Gly Gln Leu Asn Gly Gly Asp Gly Trp Tyr Arg Lys Thr
 210 215 220
 60 Phe Lys Leu Asp Glu Lys Asp Leu Asn Lys Asp Val Arg Val Thr Phe
 225 230 235 240
 65 Asp Gly Val Tyr Met Asp Ser Gln Val Phe Val Asn Gly Gln Leu Val
 245 250 255
 Gly His Tyr Pro Asn Gly Tyr Asn Gln Phe Ser Tyr Asp Ile Ser Asn
 260 265 270
 Tyr Leu His Lys Asp Gly Arg Glu Asn Val Ile Ser Val His Ala Val
 275 280 285

ES 2 352 704 A1

| | | | | | | | | | | | | | | | | |
|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| | Asn | Lys | Gln | Pro | Ser | Ser | Arg | Trp | Tyr | Ser | Gly | Ser | Gly | Ile | Tyr | Arg |
| | | 290 | | | | | 295 | | | | | 300 | | | | |
| 5 | Asp | Val | Ser | Leu | Gln | Val | Thr | Asp | Lys | Ile | His | Val | Glu | Lys | Asn | Gly |
| | 305 | | | | | 310 | | | | | 315 | | | | | 320 |
| 10 | Thr | Thr | Ile | Leu | Thr | Pro | Lys | Leu | Glu | Ser | Gln | Gln | Gly | Gly | Lys | Val |
| | | | | | 325 | | | | | 330 | | | | | 335 | |
| 15 | Glu | Thr | Gln | Val | Ser | Ser | Lys | Ile | Val | Asn | Thr | Asp | Asn | Lys | Asp | His |
| | | | | 340 | | | | | 345 | | | | | 350 | | |
| 20 | Glu | Ile | Val | Ala | Glu | Tyr | Gln | Ile | Phe | Glu | Arg | Gly | Gly | Lys | Ala | Val |
| | | | 355 | | | | | 360 | | | | | 365 | | | |
| 25 | Thr | Glu | Leu | Val | Arg | Thr | Glu | Ser | Lys | Thr | Leu | Lys | Ala | Lys | Glu | Thr |
| | | 370 | | | | | 375 | | | | | 380 | | | | |
| 30 | Ile | His | Leu | Asp | Ser | Ala | Leu | Glu | Val | Glu | Lys | Pro | Lys | Leu | Trp | Thr |
| | 385 | | | | | 390 | | | | | 395 | | | | | 400 |
| 35 | Val | Ser | Ser | Asp | Lys | Pro | Ala | Leu | Tyr | Glu | Met | Val | Thr | Arg | Val | Tyr |
| | | | | | 405 | | | | | 410 | | | | | 415 | |
| 40 | Lys | Asp | Gly | Gln | Leu | Val | Asp | Ala | Lys | Lys | Asp | Leu | Phe | Gly | Tyr | Arg |
| | | | | 420 | | | | | 425 | | | | | 430 | | |
| 45 | Tyr | Tyr | Asn | Trp | Thr | Pro | Asp | Gln | Gly | Phe | Ser | Leu | Asn | Gly | Glu | His |
| | | | 435 | | | | | 440 | | | | | 445 | | | |
| 50 | Ile | Lys | Phe | His | Gly | Val | Ser | Leu | His | His | Asp | His | Gly | Ala | Leu | Gly |
| | | 450 | | | | | 455 | | | | | 460 | | | | |
| 55 | Ala | Glu | Glu | Asn | Tyr | Lys | Ala | Glu | Tyr | Arg | Arg | Leu | Lys | Gln | Met | Lys |
| | 465 | | | | | 470 | | | | | 475 | | | | | 480 |
| 60 | Glu | Met | Gly | Val | Asn | Ser | Ile | Arg | Thr | Thr | His | Asn | Pro | Ala | Ser | Pro |
| | | | | | 485 | | | | | 490 | | | | | 495 | |
| 65 | Gln | Thr | Leu | Gln | Ile | Ala | Ala | Glu | Leu | Gly | Leu | Leu | Val | Gln | Glu | Glu |
| | | | | 500 | | | | | 505 | | | | | 510 | | |
| 70 | Ala | Phe | Asp | Thr | Trp | Tyr | Gly | Gly | Lys | Lys | Pro | Tyr | Asp | Tyr | Gly | Arg |
| | | | 515 | | | | | 520 | | | | | 525 | | | |
| 75 | Phe | Phe | Glu | Lys | Asp | Ala | Thr | His | Pro | Glu | Ala | Arg | Lys | Gly | Glu | Lys |
| | | 530 | | | | | 535 | | | | | 540 | | | | |
| 80 | Trp | Ser | Asp | Tyr | Asp | Leu | Arg | Thr | Met | Val | Glu | Arg | Asp | Lys | Asn | Asn |
| | 545 | | | | | 550 | | | | | 555 | | | | | 560 |

ES 2 352 704 A1

Pro Ala Val Val Met Trp Ser Ile Gly Asn Glu Ile Gly Glu Ala Asp
565 570 575

5 Gly Lys Ala His Ser Leu Val Thr Val Lys Arg Leu Val Lys Val Val
580 585 590

10 Lys Ser Val Asp Lys Thr Arg Tyr Val Thr Met Gly Ala Asp Lys Phe
595 600 605

15 Arg Phe Gly Asp Gly Thr Gly Asp His Glu Lys Ile Ala Asp Glu Leu
610 615 620

20 Asp Ala Val Gly Leu Asn Tyr Ser Glu Glu Asn Tyr Gln Thr Leu His
625 630 635 640

25 Ala Lys His Pro Lys Trp Leu Ile Tyr Gly Ser Glu Thr Ser Ser Ala
645 650 655

30 Thr Arg Thr Arg Gly Ser Tyr Phe His Pro Glu Ser Glu Trp Val Gly
660 665 670

35 Ser Asn Gln Tyr Trp Arg Asn Tyr Glu Gln Ser Asp Tyr Gly Asn Asp
675 680 685

40 Arg Val Gly Trp Gly Lys Thr Ala Thr Ala Ser Trp Thr Phe Asp Arg
690 695 700

45 Asp His Pro Gly Tyr Ala Gly Gln Phe Ile Trp Thr Gly Thr Asp Tyr
705 710 715 720

50 Ile Gly Glu Pro Thr Pro Trp His Asn Gln Asn Ser Thr Pro Val Lys
725 730 735

55 Ser Ser Tyr Phe Gly Ile Val Asp Thr Ala Gly Ile Pro Lys Asn Asp
740 745 750

60 Tyr Tyr Leu Tyr Gln Ser Gln Trp Val Ser Ala Lys Lys Lys Pro Met
755 760 765

65 Val His Leu Leu Pro His Trp Asn Trp Glu Lys Thr Glu Leu Ala Asp
770 775 780

70 Asn Val Ala Asp Ala Glu Asn Arg Ile Pro Val Arg Ala Tyr Ser Asn
785 790 795 800

75 Ala Ala Ser Val Glu Leu Phe Leu Asn Asn Glu Ser Leu Gly Leu Lys
805 810 815

ES 2 352 704 A1

Lys Phe Asn Lys Lys Gln Thr Ser Asp Gly Arg Thr Tyr Gln Glu Gly
 820 825 830
 5 Glu Asn Pro Gln Glu Leu Tyr Leu Glu Trp Lys Val Ala Tyr Lys Pro
 835 840 845
 10 Gly Thr Leu Glu Ala Val Ala Arg Asp Glu Ser Gly Lys Glu Ile Ala
 850 855 860
 15 Arg Asp Lys Ile Val Thr Ala Gly Glu Pro Ala Gly Val Arg Leu Val
 865 870 875 880
 20 Lys Glu Glu Asn Ala Ile Ala Ala Asp Gly Lys Asp Leu Thr Tyr Ile
 885 890 895
 25 Tyr Tyr Glu Ile Val Asp Ser Lys Gly Asn Val Val Pro Thr Ala Asn
 900 905 910
 30 Asn Leu Val His Phe Gln Leu His Gly Gln Gly Gln Leu Val Gly Val
 915 920 925
 35 Asp Asn Gly Glu Gln Ala Ser Arg Glu Arg Tyr Lys Glu Gln Ala Asp
 930 935 940
 40 Gly Ser Trp Ile Arg Arg Ala Phe Asn Gly Lys Gly Val Ala Ile Val
 945 950 955 960
 45 Lys Ser Thr Asp Gln Ala Gly Lys Phe Thr Leu Thr Ala Tyr Ser Gly
 965 970 975
 50 Leu Leu Lys Ser Asp Gln Val Thr Val Phe Thr Gly Lys Ser Asp Gln
 980 985 990
 55 Ser Glu Lys Thr Val Leu Gly Thr Glu Ile Pro Lys Val Arg Thr Val
 995 1000 1005
 60 Leu Gly Gln Lys Leu Lys Met Pro Gln Thr Val Pro Phe Val Tyr
 1010 1015 1020
 65 Ser Asp Gly Ser Arg Glu Lys Arg Pro Val Thr Trp Ser Gln Ala
 1025 1030 1035
 70 Asp Val Ser Gln Ala Gly Ile Val Thr Val Lys Gly Met Ser Asp
 1040 1045 1050
 75 Gly Arg Glu Val Glu Ala Arg Val Glu Val Leu Thr Val Ala Asn
 1055 1060 1065
 80 Glu Leu Pro Ala Val Lys Arg Ile Thr Pro Gly Thr Asp Leu Ser
 1070 1075 1080

ES 2 352 704 A1

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|----|-----|------|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|
| | Ser | Val | Asp | Lys | Leu | Val | Ser | Leu | Val | Ser | Thr | Asp | Gly | Arg | Ile |
| | | 1085 | | | | | 1090 | | | | | 1095 | | | |
| 5 | His | Asn | Tyr | Glu | Val | Glu | Asn | Trp | Glu | Ile | Ser | Pro | Glu | Asp | Lys |
| | | 1100 | | | | | 1105 | | | | | 1110 | | | |
| 10 | Glu | Lys | Leu | Ser | Thr | Pro | Gly | Ala | His | Ile | Gln | Met | Thr | Ser | Gln |
| | | 1115 | | | | | 1120 | | | | | 1125 | | | |
| 15 | Leu | Gly | Asp | Arg | Thr | Ile | His | Ala | Thr | Leu | Ile | Val | Asp | Asp | Gly |
| | | 1130 | | | | | 1135 | | | | | 1140 | | | |
| 20 | Lys | Glu | Leu | Ser | Gln | Val | Thr | Pro | Asn | Ile | Ala | Val | Gly | Gly | Glu |
| | | 1145 | | | | | 1150 | | | | | 1155 | | | |
| 25 | Ser | Val | Thr | Glu | Leu | Ser | Lys | Glu | His | Pro | Val | His | Tyr | His | Lys |
| | | 1160 | | | | | 1165 | | | | | 1170 | | | |
| 30 | Leu | Ser | Tyr | Gly | Ala | Lys | Ile | Pro | Glu | Val | Ser | Ala | Ser | Ala | Glu |
| | | 1175 | | | | | 1180 | | | | | 1185 | | | |
| 35 | Asn | Ala | Asp | Val | Asn | Val | Ile | Gln | Ala | Asn | Glu | Ser | Asn | Gly | Met |
| | | 1190 | | | | | 1195 | | | | | 1200 | | | |
| 40 | Arg | Ala | Ser | Ile | Tyr | Ile | Gln | Pro | Lys | Asp | Gly | Gly | Gln | Leu | Gln |
| | | 1205 | | | | | 1210 | | | | | 1215 | | | |
| 45 | Thr | Tyr | Ala | Val | Gln | Phe | Leu | Val | Asp | Ser | Pro | Gln | Ile | Glu | Ser |
| | | 1220 | | | | | 1225 | | | | | 1230 | | | |
| 50 | Leu | Ser | Leu | Arg | Val | Asp | Gln | Val | Ser | Ser | Leu | Lys | Glu | Asp | Gln |
| | | 1235 | | | | | 1240 | | | | | 1245 | | | |
| 55 | Thr | Val | Lys | Val | Thr | Val | Leu | Ala | Arg | Tyr | Gln | Asp | Gly | Thr | Glu |
| | | 1250 | | | | | 1255 | | | | | 1260 | | | |
| 60 | Ala | Ile | Leu | Pro | Thr | Asp | Lys | Val | Thr | Phe | Ser | Ser | Gln | Gly | Glu |
| | | 1265 | | | | | 1270 | | | | | 1275 | | | |
| 65 | Gly | Gly | Val | Ser | Val | Asn | Lys | Gly | Met | Leu | Glu | Leu | His | Lys | Pro |
| | | 1280 | | | | | 1285 | | | | | 1290 | | | |
| 70 | Gly | Ser | Leu | Thr | Leu | Gln | Ala | Gln | Tyr | Glu | Gly | Ala | Lys | Gly | Glu |
| | | 1295 | | | | | 1300 | | | | | 1305 | | | |
| 75 | Leu | Pro | Leu | Thr | Ile | Ala | Ala | Asn | Thr | Glu | Asp | Lys | Val | Val | Gln |
| | | 1310 | | | | | 1315 | | | | | 1320 | | | |

ES 2 352 704 A1

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|----|-----|------|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|
| | Ala | Ile | Arg | Pro | Val | Ser | Leu | Val | Thr | Asp | Leu | His | Gln | Thr | Pro |
| | | 1325 | | | | | 1330 | | | | | 1335 | | | |
| 5 | Asn | Leu | Pro | Ser | Thr | Val | Thr | Val | Glu | Tyr | Asp | Lys | Gly | Phe | Pro |
| | | 1340 | | | | | 1345 | | | | | 1350 | | | |
| 10 | Lys | Val | His | Lys | Val | Val | Trp | Asp | Ser | Ile | Pro | Ser | Glu | Lys | Leu |
| | | 1355 | | | | | 1360 | | | | | 1365 | | | |
| 15 | Asn | Gln | Tyr | His | Thr | Phe | Glu | Val | Leu | Gly | Lys | Val | Glu | Gly | Leu |
| | | 1370 | | | | | 1375 | | | | | 1380 | | | |
| 20 | Asn | Gln | Glu | Ala | Arg | Ala | Thr | Val | Ser | Val | Glu | Gly | Ile | Val | Lys |
| | | 1385 | | | | | 1390 | | | | | 1395 | | | |
| 25 | Val | Glu | Asp | Val | Ser | Ile | Thr | Thr | Pro | Ile | Ser | Glu | Ala | Pro | Thr |
| | | 1400 | | | | | 1405 | | | | | 1410 | | | |
| 30 | Leu | Pro | Glu | Ser | Val | Arg | Thr | Tyr | Tyr | Ser | Asn | Gly | Gln | Val | Ser |
| | | 1415 | | | | | 1420 | | | | | 1425 | | | |
| 35 | Ser | Ala | Lys | Val | Ala | Trp | Asp | Thr | Ile | Asp | Ala | Ser | Gln | Tyr | Ala |
| | | 1430 | | | | | 1435 | | | | | 1440 | | | |
| 40 | Lys | Glu | Gly | Ile | Phe | Thr | Val | Thr | Gly | His | Val | Glu | Gly | Thr | Gln |
| | | 1445 | | | | | 1450 | | | | | 1455 | | | |
| 45 | Leu | Thr | Thr | Lys | Leu | His | Val | Arg | Val | Ser | Ser | Gln | Thr | Glu | Ile |
| | | 1460 | | | | | 1465 | | | | | 1470 | | | |
| 50 | Gly | Lys | Asn | Ile | Ser | Asp | Gln | Trp | Thr | Gly | Ser | Glu | Leu | Pro | Leu |
| | | 1475 | | | | | 1480 | | | | | 1485 | | | |
| 55 | Ala | Phe | Ala | Ser | Asp | Ser | His | Ser | Tyr | Asp | Pro | Val | Ser | Asn | Val |
| | | 1490 | | | | | 1495 | | | | | 1500 | | | |
| 60 | Asn | Asp | Lys | Val | Ile | Ser | Tyr | Gly | Asp | Gln | Pro | Ala | Asn | Arg | Trp |
| | | 1505 | | | | | 1510 | | | | | 1515 | | | |
| 65 | Ser | Asn | Trp | Lys | Arg | Ser | Glu | Glu | Ala | Ser | Val | Gly | Val | Leu | Phe |
| | | 1520 | | | | | 1525 | | | | | 1530 | | | |
| 70 | Gly | Asp | Ser | Gly | Ile | Leu | Thr | Lys | Arg | Ser | Val | Asp | Asn | Leu | Asn |
| | | 1535 | | | | | 1540 | | | | | 1545 | | | |
| 75 | Val | Ala | Phe | Tyr | Glu | Asp | Ser | Gly | Val | Gly | Ala | Pro | Lys | Ser | Tyr |
| | | 1550 | | | | | 1555 | | | | | 1560 | | | |
| 80 | Val | Ile | Glu | Tyr | Tyr | Val | Gly | Glu | Lys | Ala | Pro | Thr | Ala | Pro | Lys |
| | | 1565 | | | | | 1570 | | | | | 1575 | | | |

ES 2 352 704 A1

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|----|-----|------|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|
| | Asn | Pro | Gly | Tyr | Val | Glu | Gly | Glu | Asn | His | Val | Phe | Asn | Asp | Ser |
| | | 1580 | | | | | 1585 | | | | | 1590 | | | |
| 5 | Lys | Asn | Trp | Lys | Pro | Val | Thr | Asn | Leu | Lys | Ala | Pro | Asp | Gln | Leu |
| | | 1595 | | | | | 1600 | | | | | 1605 | | | |
| 10 | Lys | Ala | Gly | Glu | Met | Asn | His | Phe | Ser | Phe | Asp | Lys | Val | Asp | Thr |
| | | 1610 | | | | | 1615 | | | | | 1620 | | | |
| 15 | Tyr | Ala | Val | Arg | Ile | Arg | Met | Thr | Arg | Ala | Asp | Asp | Lys | Leu | Gly |
| | | 1625 | | | | | 1630 | | | | | 1635 | | | |
| 20 | Thr | Ser | Ile | Thr | Glu | Leu | Gln | Val | Phe | Ser | Lys | Lys | Val | Ala | Pro |
| | | 1640 | | | | | 1645 | | | | | 1650 | | | |
| 25 | Ala | Lys | Glu | Ala | Thr | Thr | Asn | Ile | Lys | Val | Ala | Gly | Lys | Asp | Leu |
| | | 1655 | | | | | 1660 | | | | | 1665 | | | |
| 30 | Pro | His | Phe | Asn | Pro | Asp | Leu | Thr | Asp | Tyr | Tyr | Leu | Asp | Tyr | Ser |
| | | 1670 | | | | | 1675 | | | | | 1680 | | | |
| 35 | Asp | Gly | Lys | Ile | Pro | Glu | Val | Thr | Ala | Ser | Ile | Thr | Asn | Asn | Gly |
| | | 1685 | | | | | 1690 | | | | | 1695 | | | |
| 40 | Leu | Ala | Thr | Val | Val | Pro | Ser | Val | Lys | Glu | Gly | Asp | Pro | Val | Arg |
| | | 1700 | | | | | 1705 | | | | | 1710 | | | |
| 45 | Val | Ile | Val | Lys | Ala | Glu | Asn | Gly | Asp | Ile | Leu | Gly | Glu | Tyr | Asn |
| | | 1715 | | | | | 1720 | | | | | 1725 | | | |
| 50 | Leu | His | Phe | Thr | Lys | Asp | Lys | Asp | Leu | Leu | Ala | Arg | Lys | Pro | Ile |
| | | 1730 | | | | | 1735 | | | | | 1740 | | | |
| 55 | Ala | Ser | Ala | Lys | Gln | Ser | Gln | Leu | Leu | Gln | Leu | Gly | Gln | Pro | Leu |
| | | 1745 | | | | | 1750 | | | | | 1755 | | | |
| 60 | Glu | Leu | Pro | Asn | Lys | Val | Pro | Val | Tyr | Phe | Ala | Gly | Lys | Ser | Gly |
| | | 1760 | | | | | 1765 | | | | | 1770 | | | |
| 65 | Tyr | Asp | Val | Lys | Asp | Leu | Ala | Val | Glu | Trp | Glu | Lys | Val | Pro | Ala |
| | | 1775 | | | | | 1780 | | | | | 1785 | | | |
| | Ser | Thr | Leu | Asn | Lys | Ala | Gly | Glu | Tyr | Thr | Ile | Lys | Gly | His | Val |
| | | 1790 | | | | | 1795 | | | | | 1800 | | | |
| | Val | Gly | Ser | Glu | Val | Pro | Val | Glu | Leu | Ser | Val | Arg | Val | Thr | Asp |
| | | 1805 | | | | | 1810 | | | | | 1815 | | | |

ES 2 352 704 A1

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|----|-----|------|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|
| | Lys | Val | Gly | Arg | Ser | Leu | Ser | Asp | Asn | Pro | Asp | Tyr | Leu | Ala | Thr |
| | | 1820 | | | | | 1825 | | | | | 1830 | | | |
| 5 | His | Ser | Gln | Ala | Phe | Ala | Ser | Ala | Thr | Asn | Asp | Leu | Asp | Asp | Asn |
| | | 1835 | | | | | 1840 | | | | | 1845 | | | |
| 10 | Ser | Asn | Asp | Arg | Val | Asp | Tyr | Leu | Asn | Asp | Asn | Asp | Arg | Asn | Gln |
| | | 1850 | | | | | 1855 | | | | | 1860 | | | |
| 15 | Asp | Asn | Arg | Trp | Thr | Asn | Trp | Ser | Ala | Thr | Pro | Ser | Ala | Asn | Pro |
| | | 1865 | | | | | 1870 | | | | | 1875 | | | |
| 20 | Glu | Val | Ser | Val | Gly | Val | Ile | Phe | Lys | Lys | Asn | Gly | Lys | Ile | Val |
| | | 1880 | | | | | 1885 | | | | | 1890 | | | |
| 25 | Asp | Arg | Lys | Val | Ser | Gln | Ala | Lys | Leu | Asn | Phe | Phe | Ala | Asp | Ser |
| | | 1895 | | | | | 1900 | | | | | 1905 | | | |
| 30 | Gly | Thr | Asp | Ala | Pro | Ala | Lys | Leu | Val | Leu | Glu | Arg | Tyr | Ile | Gly |
| | | 1910 | | | | | 1915 | | | | | 1920 | | | |
| 35 | Pro | Asp | Phe | Asp | Val | Pro | Val | Tyr | Tyr | Ser | Asn | Tyr | Ser | Tyr | Glu |
| | | 1925 | | | | | 1930 | | | | | 1935 | | | |
| 40 | Ser | Asn | His | Pro | Phe | Asn | Asn | Pro | Asp | Asn | Trp | Glu | Leu | Val | Pro |
| | | 1940 | | | | | 1945 | | | | | 1950 | | | |
| 45 | Tyr | Tyr | Ala | Asp | Lys | Glu | Ile | Gln | Ala | Gly | Asn | Glu | Ile | Asn | Val |
| | | 1955 | | | | | 1960 | | | | | 1965 | | | |
| 50 | Thr | Phe | Lys | Ala | Val | Thr | Thr | Lys | Ala | Met | Arg | Trp | Arg | Met | Asp |
| | | 1970 | | | | | 1975 | | | | | 1980 | | | |
| 55 | Arg | Lys | Ala | Asp | Lys | Asn | Gly | Val | Ala | Leu | Thr | Glu | Leu | Ser | Phe |
| | | 1985 | | | | | 1990 | | | | | 1995 | | | |
| 60 | Arg | Ala | Pro | Ser | Glu | Leu | Ala | Lys | Glu | Ser | Thr | Glu | Gly | Arg | Ile |
| | | 2000 | | | | | 2005 | | | | | 2010 | | | |
| 65 | Leu | Val | Asp | Gly | Lys | Glu | Leu | Pro | Asp | Phe | Ser | Glu | Asn | Arg | Leu |
| | | 2015 | | | | | 2020 | | | | | 2025 | | | |
| 70 | Asp | Tyr | Glu | Leu | Ile | Tyr | Lys | Gly | Glu | Arg | Pro | Lys | Ile | Thr | Val |
| | | 2030 | | | | | 2035 | | | | | 2040 | | | |
| 75 | Glu | Gly | Lys | Asp | Gln | Val | Thr | Ser | Thr | Ile | Val | Asp | Ser | Gly | Asn |
| | | 2045 | | | | | 2050 | | | | | 2055 | | | |
| 80 | Glu | Asn | Leu | Pro | Val | Leu | Val | Arg | Leu | Val | Ser | Glu | Ser | Gly | Lys |
| | | 2060 | | | | | 2065 | | | | | 2070 | | | |

ES 2 352 704 A1

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|----|-----|------|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|
| | Asn | Val | Lys | Glu | Tyr | Arg | Ile | Lys | Leu | Thr | Lys | Glu | Lys | Val | Ile |
| | | 2075 | | | | | 2080 | | | | | 2085 | | | |
| 5 | Asp | Ala | Lys | Leu | Val | Ala | Pro | Ala | Gln | Tyr | Asp | Leu | Pro | Ser | Leu |
| | | 2090 | | | | | 2095 | | | | | 2100 | | | |
| 10 | Glu | Val | Val | Asp | Lys | Glu | Leu | Asn | Phe | Gln | Thr | Leu | Glu | Gln | Lys |
| | | 2105 | | | | | 2110 | | | | | 2115 | | | |
| 15 | Asp | Asp | Thr | Leu | Phe | Glu | Gly | Glu | Val | Arg | Leu | Leu | Gln | Glu | Gly |
| | | 2120 | | | | | 2125 | | | | | 2130 | | | |
| 20 | Lys | Val | Gly | Lys | Glu | Arg | Ile | Tyr | Thr | Glu | Val | Thr | Thr | Asp | Gly |
| | | 2135 | | | | | 2140 | | | | | 2145 | | | |
| 25 | Lys | Asn | Lys | Glu | Lys | Ser | Arg | Glu | Ile | Leu | Glu | Glu | Pro | Val | Asn |
| | | 2150 | | | | | 2155 | | | | | 2160 | | | |
| 30 | Arg | Ile | Leu | Leu | Val | Gly | Thr | Lys | Lys | Lys | Thr | Ser | Asn | Ile | Glu |
| | | 2165 | | | | | 2170 | | | | | 2175 | | | |
| 35 | Thr | Pro | Ala | Gly | Gly | His | Gln | Asp | Asn | Gly | Ser | Ser | Gln | Pro | Thr |
| | | 2180 | | | | | 2185 | | | | | 2190 | | | |
| 40 | Glu | Gln | Lys | Pro | Gly | Ala | Asn | Pro | Asn | Pro | Asn | Ile | Val | Ile | Pro |
| | | 2195 | | | | | 2200 | | | | | 2205 | | | |
| 45 | Asn | Pro | Ser | Asn | Asn | Gly | Val | Thr | Ser | Asn | Ser | Ser | Asp | Phe | Lys |
| | | 2210 | | | | | 2215 | | | | | 2220 | | | |
| 50 | Asn | His | Leu | Ser | Val | Ala | Pro | Asn | Ile | Val | Ile | Gln | Ala | Pro | Thr |
| | | 2225 | | | | | 2230 | | | | | 2235 | | | |
| 55 | Gln | Glu | Ser | Lys | Lys | Pro | Gly | Trp | Asn | Lys | Glu | Asp | Gly | Lys | Trp |
| | | 2240 | | | | | 2245 | | | | | 2250 | | | |
| 60 | Tyr | Tyr | Arg | Gln | Gln | Asn | Gly | Asp | Leu | Ala | Lys | Gly | Trp | Val | Lys |
| | | 2255 | | | | | 2260 | | | | | 2265 | | | |
| 65 | Asp | Gly | Asp | Thr | Trp | Tyr | Tyr | Phe | Asp | Gln | Thr | Gly | Lys | Met | Glu |
| | | 2270 | | | | | 2275 | | | | | 2280 | | | |
| 70 | Thr | Gly | Trp | Ile | Lys | Asp | Gln | Ser | Gly | Ala | Trp | Tyr | Tyr | Leu | Asn |
| | | 2285 | | | | | 2290 | | | | | 2295 | | | |
| 75 | Gln | Ser | Gly | Ala | Met | Ser | Ser | Asn | Glu | Trp | Ile | Leu | Asp | Gln | Asp |
| | | 2300 | | | | | 2305 | | | | | 2310 | | | |

ES 2 352 704 A1

Gly Lys Trp Tyr Tyr Val Asp Ala Ser Gly Ser Met Lys Thr Ser
 2315 2320 2325
 5 Gln Trp Phe Gln Val Gly Asp Lys Trp Tyr Tyr Val Asp Ala Asn
 2330 2335 2340
 10 Gly Ser Leu Ala Val Asn Thr Val Thr Pro Asp Gly Tyr Gln Val
 2345 2350 2355
 Asn Glu Asn Gly Glu Trp Ile Gly
 2360 2365
 15 <210> 5
 <211> 7119
 <212> DNA
 20 <213> Artificial
 <220>
 <223> beta-galactosidasa sin péptido señal con poli-histidina
 25 <220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(7119)
 30 <223> beta-galactosidasa sin péptido señal con poli-histidina
 <220>
 <221> misc_feature
 35 <222> (4)..(21)
 <223> Etiqueta poli-his
 <400> 5
 40 atg cac cac cac cac cac cac gaa aat gct gaa gaa att gtg tta aca
 48 Met His His His His His His Glu Asn Ala Glu Glu Ile Val Leu Thr
 45 1 5 10 15
 aat agg act gag cac cag tct gaa aac ctg aaa act act gga ctc tca
 96 Asn Arg Thr Glu His Gln Ser Glu Asn Leu Lys Thr Thr Gly Leu Ser
 50 20 25 30
 agt gaa cat aaa gct gaa ggt gtt acg act gaa aaa gca agt gag caa
 144 Ser Glu His Lys Ala Glu Gly Val Thr Thr Glu Lys Ala Ser Glu Gln
 55 35 40 45
 cct gtt aaa gct gaa aat gta tct cta aag gaa aat gcg gat ggt agt
 192 Pro Val Lys Ala Glu Asn Val Ser Leu Lys Glu Asn Ala Asp Gly Ser
 60 50 55 60
 65 gat gca gta gta aaa cct cac gca gat caa cct tta gtt tca gtt gcc
 240

ES 2 352 704 A1

Asp Ala Val Val Lys Pro His Ala Asp Gln Pro Leu Val Ser Val Ala
 65 70 75 80
 5
 aat aat caa tca gtt cct tta gaa gaa ggt aag gct gaa gtc gaa aac
 288
 Asn Asn Gln Ser Val Pro Leu Glu Glu Gly Lys Ala Glu Val Glu Asn
 10 85 90 95
 aaa aca gaa gaa agg aac aag cct gag gat aga aat aag ctt gaa gaa
 336
 15 Lys Thr Glu Glu Arg Asn Lys Pro Glu Asp Arg Asn Lys Leu Glu Glu
 100 105 110
 aca aat aag act gag gta acg gat aaa tct gaa gat aaa aat aaa tct
 384
 20 Thr Asn Lys Thr Glu Val Thr Asp Lys Ser Glu Asp Lys Asn Lys Ser
 115 120 125
 25
 gaa gaa aca aat aaa gca gaa tca caa gat cgt tct gtt tca aaa gat
 432
 30 Glu Glu Thr Asn Lys Ala Glu Ser Gln Asp Arg Ser Val Ser Lys Asp
 130 135 140
 aag caa gaa ttc aaa tct gct acg aat gaa gta gtt gat aag tta att
 480
 35 Lys Gln Glu Phe Lys Ser Ala Thr Asn Glu Val Val Asp Lys Leu Ile
 145 150 155 160
 40
 gaa gat aga aac att tcc ttc aac cag aat tgg cac ttt aaa cta aat
 528
 45 Glu Asp Arg Asn Ile Ser Phe Asn Gln Asn Trp His Phe Lys Leu Asn
 165 170 175
 gcc aat gca aag gaa gct gta aaa cca gac gca gat att tct tca tgg
 576
 50 Ala Asn Ala Lys Glu Ala Val Lys Pro Asp Ala Asp Ile Ser Ser Trp
 180 185 190
 aaa aaa atg gat ctt cct cat gac tgg agt att cat ttt gat ttt gac
 624
 55 Lys Lys Met Asp Leu Pro His Asp Trp Ser Ile His Phe Asp Phe Asp
 195 200 205
 60
 cat gat tca cca gct caa aac gaa ggc ggt caa ttg aat ggt gga gat
 672
 65 His Asp Ser Pro Ala Gln Asn Glu Gly Gly Gln Leu Asn Gly Gly Asp
 210 215 220

ES 2 352 704 A1

| | | | | | | | | | | | | | | | | |
|----|-------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| | ggc | tgg | tat | cgg | aaa | acc | ttt | aag | tta | gat | gaa | aag | gac | ttg | aat | aaa |
| | 720 Gly | Trp | Tyr | Arg | Lys | Thr | Phe | Lys | Leu | Asp | Glu | Lys | Asp | Leu | Asn | Lys |
| 5 | 225 | | | | | 230 | | | | | 235 | | | | | 240 |
| | gat | gtt | cgt | gta | acc | ttt | gat | ggg | gtt | tac | atg | gat | tca | caa | gta | ttc |
| 10 | 768 Asp | Val | Arg | Val | Thr | Phe | Asp | Gly | Val | Tyr | Met | Asp | Ser | Gln | Val | Phe |
| | | | | | 245 | | | | | 250 | | | | | 255 | |
| | gtc | aat | ggc | caa | cta | gtt | ggg | cac | tat | cca | aat | ggg | tac | aat | caa | ttt |
| 15 | 816 Val | Asn | Gly | Gln | Leu | Val | Gly | His | Tyr | Pro | Asn | Gly | Tyr | Asn | Gln | Phe |
| | | | | 260 | | | | | 265 | | | | | 270 | | |
| | tca | tat | gac | att | agt | aac | tat | ctc | cat | aaa | gat | ggg | cga | gaa | aat | gtc |
| 20 | 864 Ser | Tyr | Asp | Ile | Ser | Asn | Tyr | Leu | His | Lys | Asp | Gly | Arg | Glu | Asn | Val |
| | | | 275 | | | | | 280 | | | | | 285 | | | |
| | att | tct | gtt | cat | gca | gtt | aat | aag | caa | cca | agt | agt | aga | tgg | tat | tca |
| 25 | 912 Ile | Ser | Val | His | Ala | Val | Asn | Lys | Gln | Pro | Ser | Ser | Arg | Trp | Tyr | Ser |
| | | 290 | | | | | | 295 | | | | 300 | | | | |
| | gga | agt | ggg | atc | tat | cga | gac | gta | tca | ttg | cag | gta | aca | gac | aag | att |
| 30 | 960 Gly | Ser | Gly | Ile | Tyr | Arg | Asp | Val | Ser | Leu | Gln | Val | Thr | Asp | Lys | Ile |
| | 305 | | | | | 310 | | | | | 315 | | | | | 320 |
| | cat | gtt | gaa | aag | aat | ggg | aca | act | att | cta | act | cca | aaa | cta | gaa | agt |
| 35 | 1008 His | Val | Glu | Lys | Asn | Gly | Thr | Thr | Ile | Leu | Thr | Pro | Lys | Leu | Glu | Ser |
| | | | | | 325 | | | | | 330 | | | | | 335 | |
| | caa | caa | gga | gga | aaa | gtt | gaa | acc | caa | gta | agc | agt | aaa | att | gtt | aat |
| 40 | 1056 Gln | Gln | Gly | Gly | Lys | Val | Glu | Thr | Gln | Val | Ser | Ser | Lys | Ile | Val | Asn |
| | | | | 340 | | | | | 345 | | | | | 350 | | |
| | aca | gat | aat | aaa | gac | cat | gaa | att | gta | gca | gag | tat | caa | att | ttt | gaa |
| 45 | 1104 Thr | Asp | Asn | Lys | Asp | His | Glu | Ile | Val | Ala | Glu | Tyr | Gln | Ile | Phe | Glu |
| | | | 355 | | | | | 360 | | | | | 365 | | | |
| | cga | ggg | ggg | aag | gca | gtt | aca | gaa | ctt | gtt | cga | act | gag | agt | aaa | act |

ES 2 352 704 A1

1152
Arg Gly Gly Lys Ala Val Thr Glu Leu Val Arg Thr Glu Ser Lys Thr
370 375 380

5

cta aaa gct aag gaa acc att cat ttg gat tca gca tta gag gtt gaa
1200
Leu Lys Ala Lys Glu Thr Ile His Leu Asp Ser Ala Leu Glu Val Glu
385 390 395 400

10

aaa cca aaa ttg tgg aca gtg tca tct gac aaa cct gct tta tat gag
1248
Lys Pro Lys Leu Trp Thr Val Ser Ser Asp Lys Pro Ala Leu Tyr Glu
405 410 415

15

atg gta act cgt gtt tac aaa gat ggt cag ctt gta gat gca aag aaa
1296
Met Val Thr Arg Val Tyr Lys Asp Gly Gln Leu Val Asp Ala Lys Lys
420 425 430

20

gat tta ttt ggt tat cgc tac tat aac tgg act cca gac caa ggg ttc
1344
Asp Leu Phe Gly Tyr Arg Tyr Tyr Asn Trp Thr Pro Asp Gln Gly Phe
435 440 445

25

tct tta aat ggt gaa cac atc aag ttc cac ggt gtt tca ttg cac cat
1392
Ser Leu Asn Gly Glu His Ile Lys Phe His Gly Val Ser Leu His His
450 455 460

30

gat cat gga gcg cta gga gca gaa gaa aac tat aag gca gaa tat cgt
1440
Asp His Gly Ala Leu Gly Ala Glu Glu Asn Tyr Lys Ala Glu Tyr Arg
465 470 475 480

35

cgt ctg aaa caa atg aag gaa atg gga gtg aat tcg att cgt acg act
1488
Arg Leu Lys Gln Met Lys Glu Met Gly Val Asn Ser Ile Arg Thr Thr
485 490 495

40

cac aac cca gca agt cct cag acc ttg cag att gca gct gag ctc ggt
1536
His Asn Pro Ala Ser Pro Gln Thr Leu Gln Ile Ala Ala Glu Leu Gly
500 505 510

45

ttg ctt gtt caa gaa gaa gct ttt gat act tgg tat gga ggt aag aaa
1584
Leu Leu Val Gln Glu Glu Ala Phe Asp Thr Trp Tyr Gly Gly Lys Lys

50

55

60

65

ES 2 352 704 A1

| | | | |
|----|--|-----|---------|
| | 515 | 520 | 525 |
| 5 | cca tac gac tat ggt cgt ttc ttt gaa aaa gat gct acc cac cct gaa 1632 Pro Tyr Asp Tyr Gly Arg Phe Phe Glu Lys Asp Ala Thr His Pro Glu | | |
| | 530 | 535 | 540 |
| 10 | gca aga aaa ggt gaa aaa tgg tcc gac tac gat ctt cga aca atg gta 1680 Ala Arg Lys Gly Glu Lys Trp Ser Asp Tyr Asp Leu Arg Thr Met Val | | |
| 15 | 545 | 550 | 555 560 |
| 20 | gaa aga gat aaa aac aat cct gct gtt gtt atg tgg tct att ggt aac 1728 Glu Arg Asp Lys Asn Asn Pro Ala Val Val Met Trp Ser Ile Gly Asn | 565 | 570 575 |
| 25 | gaa atc ggt gaa gca gat ggg aaa gcc cat tca ctg gta act gtc aaa 1776 Glu Ile Gly Glu Ala Asp Gly Lys Ala His Ser Leu Val Thr Val Lys | 580 | 585 590 |
| 30 | | | |
| 35 | cgt ttg gtc aaa gtg gtg aaa tct gtt gat aag aca cgt tat gta acc 1824 Arg Leu Val Lys Val Val Lys Ser Val Asp Lys Thr Arg Tyr Val Thr | 595 | 600 605 |
| 40 | atg gga gct gat aaa ttc cgt ttc gga gat gga act ggg gac cat gaa 1872 Met Gly Ala Asp Lys Phe Arg Phe Gly Asp Gly Thr Gly Asp His Glu | 610 | 615 620 |
| 45 | aag att gca gat gaa ctg gat gca gtt gga ttg aat tac tct gaa gaa 1920 Lys Ile Ala Asp Glu Leu Asp Ala Val Gly Leu Asn Tyr Ser Glu Glu | | |
| 50 | 625 | 630 | 635 640 |
| 55 | aat tat caa act ctt cat gcg aaa cat ccg aaa tgg ctc atc tat ggt 1968 Asn Tyr Gln Thr Leu His Ala Lys His Pro Lys Trp Leu Ile Tyr Gly | 645 | 650 655 |
| 60 | tca gaa aca tct tca gca act cgt aca aga gga agt tat ttc cat cca 2016 Ser Glu Thr Ser Ser Ala Thr Arg Thr Arg Gly Ser Tyr Phe His Pro | 660 | 665 670 |
| 65 | | | |

ES 2 352 704 A1

gag agt gag tgg gta gga agt aac caa tat tgg cgt aat tac gaa caa
 2064
 Glu Ser Glu Trp Val Gly Ser Asn Gln Tyr Trp Arg Asn Tyr Glu Gln
 5 675 680 685

tcc gat tat ggt aat gat cgt gtt ggt tgg ggt aaa act gct aca gca
 2112
 Ser Asp Tyr Gly Asn Asp Arg Val Gly Trp Gly Lys Thr Ala Thr Ala
 10 690 695 700

tca tgg acc ttc gat aga gat cat cca gga tac gct gga caa ttc att
 2160
 Ser Trp Thr Phe Asp Arg Asp His Pro Gly Tyr Ala Gly Gln Phe Ile
 15 705 710 715 720

tgg acc ggt acg gat tat att ggt gaa cca aca cca tgg cac aat caa
 2208
 Trp Thr Gly Thr Asp Tyr Ile Gly Glu Pro Thr Pro Trp His Asn Gln
 25 725 730 735

aat agt aca cca gta aaa agt tcc tac ttt ggt att gtt gat acc gca
 2256
 Asn Ser Thr Pro Val Lys Ser Ser Tyr Phe Gly Ile Val Asp Thr Ala
 30 740 745 750

ggt att cca aaa aat gac tat tat ctc tac caa agt cag tgg gtt tct
 2304
 Gly Ile Pro Lys Asn Asp Tyr Tyr Leu Tyr Gln Ser Gln Trp Val Ser
 35 755 760 765

gcc aag aaa aaa cca atg gtt cat tta ctt cct cac tgg aac tgg gaa
 2352
 Ala Lys Lys Lys Pro Met Val His Leu Leu Pro His Trp Asn Trp Glu
 45 770 775 780

aag act gaa ttg gca gat aat gtt gca gac gct gaa aat cga att cca
 2400
 Lys Thr Glu Leu Ala Asp Asn Val Ala Asp Ala Glu Asn Arg Ile Pro
 50 785 790 795 800

gtt aga gct tat tcc aat gct gcc agt gtt gag ttg ttc tta aat aat
 2448
 Val Arg Ala Tyr Ser Asn Ala Ala Ser Val Glu Leu Phe Leu Asn Asn
 55 805 810 815

gag tca cta ggt ctt aaa aaa ttc aac aaa aaa caa aca agt gac ggt
 2496
 Glu Ser Leu Gly Leu Lys Lys Phe Asn Lys Lys Gln Thr Ser Asp Gly
 65

ES 2 352 704 A1

| | | | |
|----|--|-----|-----|
| | 820 | 825 | 830 |
| 5 | cga aca tat caa gaa ggt gaa aat cct caa gaa cta tac ttg gag tgg 2544 Arg Thr Tyr Gln Glu Gly Glu Asn Pro Gln Glu Leu Tyr Leu Glu Trp | | |
| | 835 | 840 | 845 |
| 10 | aaa gta gct tat aaa ccg gga act ttg gaa gct gta gct cga gat gag 2592 Lys Val Ala Tyr Lys Pro Gly Thr Leu Glu Ala Val Ala Arg Asp Glu | | |
| 15 | 850 | 855 | 860 |
| | tct ggc aag gaa att gct cgt gat aag att gta act gct ggt gaa cct 2640 Ser Gly Lys Glu Ile Ala Arg Asp Lys Ile Val Thr Ala Gly Glu Pro | | |
| 20 | 865 | 870 | 875 |
| | | | 880 |
| 25 | gca ggt gtc cgt ttg gtt aag gaa gaa aat gca atc gct gca gat gga 2688 Ala Gly Val Arg Leu Val Lys Glu Glu Asn Ala Ile Ala Ala Asp Gly | | |
| | 885 | 890 | 895 |
| 30 | | | |
| | aaa gat ttg act tat atc tat tac gaa att gta gat agc aag ggt aat 2736 Lys Asp Leu Thr Tyr Ile Tyr Tyr Glu Ile Val Asp Ser Lys Gly Asn | | |
| 35 | 900 | 905 | 910 |
| | | | |
| 40 | gtt gtg cca act gct aac aat cta gtt cac ttc caa ctt cat gga caa 2784 Val Val Pro Thr Ala Asn Asn Leu Val His Phe Gln Leu His Gly Gln | | |
| | 915 | 920 | 925 |
| 45 | | | |
| | ggg caa ctg gtt ggt gtg gat aat ggt gag caa gct agt cgt gaa cgt 2832 Gly Gln Leu Val Gly Val Asp Asn Gly Glu Gln Ala Ser Arg Glu Arg | | |
| 50 | 930 | 935 | 940 |
| | | | |
| | tat aaa gaa caa gca gat ggt tct tgg att cgt aga gcc ttt aat ggt 2880 Tyr Lys Glu Gln Ala Asp Gly Ser Trp Ile Arg Arg Ala Phe Asn Gly | | |
| 55 | 945 | 950 | 955 |
| | | | 960 |
| 60 | aaa ggg gta gcg att gtt aaa tcg act gat caa gca ggt aaa ttt acc 2928 Lys Gly Val Ala Ile Val Lys Ser Thr Asp Gln Ala Gly Lys Phe Thr | | |
| | 965 | 970 | 975 |
| 65 | | | |

ES 2 352 704 A1

ctt aca gca tat tca ggc ttg ttg aaa tca gat caa gtt aca gtt ttt
 2976
 Leu Thr Ala Tyr Ser Gly Leu Leu Lys Ser Asp Gln Val Thr Val Phe
 5 980 985 990

aca ggt aag tca gac cag tca gaa aaa act gtt tta gga aca gaa ata
 3024
 Thr Gly Lys Ser Asp Gln Ser Glu Lys Thr Val Leu Gly Thr Glu Ile
 10 995 1000 1005

cca aaa gtt cgg aca gtt tta gga caa aaa ctt aaa atg cct cag
 3069
 Pro Lys Val Arg Thr Val Leu Gly Gln Lys Leu Lys Met Pro Gln
 15 1010 1015 1020

aca gtg cca ttt gta tat agt gat ggt agt cgt gaa aaa cgt cct
 3114
 Thr Val Pro Phe Val Tyr Ser Asp Gly Ser Arg Glu Lys Arg Pro
 20 1025 1030 1035

gta acc tgg tct caa gca gat gtc agt caa gct gga att gta act
 3159
 Val Thr Trp Ser Gln Ala Asp Val Ser Gln Ala Gly Ile Val Thr
 25 1040 1045 1050

gta aaa ggt atg tct gat gga cgt gaa gtt gag gct cgt gtt gaa
 3204
 Val Lys Gly Met Ser Asp Gly Arg Glu Val Glu Ala Arg Val Glu
 30 1055 1060 1065

gta ctt aca gtt gcg aat gaa ctt cca gct gtt aaa cgc atc aca
 3249
 Val Leu Thr Val Ala Asn Glu Leu Pro Ala Val Lys Arg Ile Thr
 35 1070 1075 1080

cct gga aca gac ttg agt tct gtg gat aaa ctt gtt tca ctt gtt
 3294
 Pro Gly Thr Asp Leu Ser Ser Val Asp Lys Leu Val Ser Leu Val
 40 1085 1090 1095

tca aca gat ggt cgt att cac aat tat gaa gtt gaa aat tgg gaa
 3339
 Ser Thr Asp Gly Arg Ile His Asn Tyr Glu Val Glu Asn Trp Glu
 45 1100 1105 1110

att tca cca gaa gat aaa gag aag tta tct act ccg ggg gca cat
 3384
 50 55 60 65

ES 2 352 704 A1

| | | | | |
|----|---------|---------------------|---------------------|-------------|
| | Ile Ser | Pro Glu Asp Lys Glu | Lys Leu Ser Thr Pro | Gly Ala His |
| | 1115 | 1120 | 1125 | |
| 5 | | | | |
| | att cag | atg act agc caa tta | gga gat aga acc atc | cac gct act |
| | 3429 | | | |
| | Ile Gln | Met Thr Ser Gln Leu | Gly Asp Arg Thr Ile | His Ala Thr |
| 10 | 1130 | 1135 | 1140 | |
| | | | | |
| | ttg ata | gtt gat gat ggt aag | gaa ttg tct caa gtt | aca cca aat |
| | 3474 | | | |
| 15 | Leu Ile | Val Asp Asp Gly Lys | Glu Leu Ser Gln Val | Thr Pro Asn |
| | 1145 | 1150 | 1155 | |
| | | | | |
| 20 | ata gca | gta ggt ggt gaa agt | gtt acg gaa ctt tca | aaa gag cat |
| | 3519 | | | |
| | Ile Ala | Val Gly Gly Glu Ser | Val Thr Glu Leu Ser | Lys Glu His |
| | 1160 | 1165 | 1170 | |
| 25 | | | | |
| | cct gta | cat tat cac aaa ctt | tct tat gga gca aaa | att cca gaa |
| | 3564 | | | |
| | Pro Val | His Tyr His Lys Leu | Ser Tyr Gly Ala Lys | Ile Pro Glu |
| 30 | 1175 | 1180 | 1185 | |
| | | | | |
| 35 | gtc agt | gct agt gct gaa aat | gcc gat gtg aac gtg | att cag gca |
| | 3609 | | | |
| | Val Ser | Ala Ser Ala Glu Asn | Ala Asp Val Asn Val | Ile Gln Ala |
| | 1190 | 1195 | 1200 | |
| | | | | |
| 40 | aat gaa | tcc aat gga atg cgt | gct agt atc tac att | cag cct aaa |
| | 3654 | | | |
| | Asn Glu | Ser Asn Gly Met Arg | Ala Ser Ile Tyr Ile | Gln Pro Lys |
| 45 | 1205 | 1210 | 1215 | |
| | | | | |
| 50 | gac ggg | gga cag tta caa acc | tat gct gtt cag ttc | ctt gtt gat |
| | 3699 | | | |
| | Asp Gly | Gly Gln Leu Gln Thr | Tyr Ala Val Gln Phe | Leu Val Asp |
| | 1220 | 1225 | 1230 | |
| | | | | |
| 55 | tct cca | caa att gaa agc ttg | agt ctc aga gtg gat | caa gta tct |
| | 3744 | | | |
| | Ser Pro | Gln Ile Glu Ser Leu | Ser Leu Arg Val Asp | Gln Val Ser |
| | 1235 | 1240 | 1245 | |
| 60 | | | | |
| | agc ctc | aaa gaa gat caa act | gtt aaa gtg aca gtt | tta gcc cgt |
| | 3789 | | | |
| | Ser Leu | Lys Glu Asp Gln Thr | Val Lys Val Thr Val | Leu Ala Arg |
| 65 | 1250 | 1255 | 1260 | |

ES 2 352 704 A1

| | | |
|----|---|--|
| | tat cag gat gga act gaa gct att tta cca act gat aag gtg act | |
| | 3834 Tyr Gln Asp Gly Thr Glu Ala Ile Leu Pro Thr Asp Lys Val Thr | |
| 5 | 1265 1270 1275 | |
| | ttc tca agc caa ggc gag gga gga gtc tct gtt aat aag gga atg | |
| | 3879 Phe Ser Ser Gln Gly Glu Gly Gly Val Ser Val Asn Lys Gly Met | |
| 10 | 1280 1285 1290 | |
| | cta gag ttg cat aaa ccg ggt agt ctc act tta caa gct caa tat | |
| | 3924 Leu Glu Leu His Lys Pro Gly Ser Leu Thr Leu Gln Ala Gln Tyr | |
| 15 | 1295 1300 1305 | |
| | gaa ggt gca aaa gga gaa ctt cct cta acg atc gca gca aat act | |
| | 3969 Glu Gly Ala Lys Gly Glu Leu Pro Leu Thr Ile Ala Ala Asn Thr | |
| 20 | 1310 1315 1320 | |
| | gaa gat aaa gtt gtt cag gcc att cgc cca gtt agc ctt gtg aca | |
| | 4014 Glu Asp Lys Val Val Gln Ala Ile Arg Pro Val Ser Leu Val Thr | |
| 25 | 1325 1330 1335 | |
| | gat ttg cac caa aca cca aat ctt cca tct aca gta aca gtt gag | |
| | 4059 Asp Leu His Gln Thr Pro Asn Leu Pro Ser Thr Val Thr Val Glu | |
| 30 | 1340 1345 1350 | |
| | tac gat aaa gga ttt cca aaa gtt cat aag gta gtt tgg gat tcg | |
| | 4104 Tyr Asp Lys Gly Phe Pro Lys Val His Lys Val Val Trp Asp Ser | |
| 35 | 1355 1360 1365 | |
| | att cca tct gaa aaa tta aat caa tat cat act ttt gaa gta ctt | |
| | 4149 Ile Pro Ser Glu Lys Leu Asn Gln Tyr His Thr Phe Glu Val Leu | |
| 40 | 1370 1375 1380 | |
| | ggt aag gtt gaa gga ttg aat caa gaa gct cgt gcg aca gta tca | |
| | 4194 Gly Lys Val Glu Gly Leu Asn Gln Glu Ala Arg Ala Thr Val Ser | |
| 45 | 1385 1390 1395 | |
| | gta gaa gga att gta aaa gtt gaa gat gtg agc atc aca aca cca | |
| 50 | | |
| 55 | | |
| 60 | | |
| 65 | | |

ES 2 352 704 A1

| | | | | | | | |
|----|---------|---------------------|---------------------|---------------------|-------------|---------|-------------|
| | 4239 | Val Glu | Gly Ile Val | Lys Val | Glu Asp Val | Ser Ile | Thr Thr Pro |
| 5 | | 1400 | | 1405 | | 1410 | |
| | att tct | gag gca cca acc ttg | cca gaa agt gtc cga | act tat tat | | | |
| 10 | 4284 | Ile Ser | Glu Ala Pro Thr Leu | Pro Glu Ser Val Arg | Thr Tyr Tyr | | |
| | | 1415 | | 1420 | | 1425 | |
| | tca aat | ggc caa gta tct tca | gct aag gtg gct tgg | gac act att | | | |
| 15 | 4329 | Ser Asn | Gly Gln Val Ser Ser | Ala Lys Val Ala Trp | Asp Thr Ile | | |
| | | 1430 | | 1435 | | 1440 | |
| 20 | | | | | | | |
| | gat gca | agc cag tat gca aaa | gaa gga atc ttt act | gta aca ggc | | | |
| 25 | 4374 | Asp Ala | Ser Gln Tyr Ala Lys | Glu Gly Ile Phe Thr | Val Thr Gly | | |
| | | 1445 | | 1450 | | 1455 | |
| | cat gta | gaa gga aca caa ctg | aca acg aaa tta cat | gtt cgt gta | | | |
| 30 | 4419 | His Val | Glu Gly Thr Gln Leu | Thr Thr Lys Leu His | Val Arg Val | | |
| | | 1460 | | 1465 | | 1470 | |
| 35 | | | | | | | |
| | tcg agt | caa aca gaa att ggg | aag aat att tca gat | caa tgg aca | | | |
| 40 | 4464 | Ser Ser | Gln Thr Glu Ile Gly | Lys Asn Ile Ser Asp | Gln Trp Thr | | |
| | | 1475 | | 1480 | | 1485 | |
| | ggt tca | gaa tta cca ctt gcc | ttt gca tca gat tct | cat tct tat | | | |
| 45 | 4509 | Gly Ser | Glu Leu Pro Leu Ala | Phe Ala Ser Asp Ser | His Ser Tyr | | |
| | | 1490 | | 1495 | | 1500 | |
| 50 | | | | | | | |
| | gac cca | gta tct aat gta aat | gat aaa gtg att tct | tac ggt gat | | | |
| 55 | 4554 | Asp Pro | Val Ser Asn Val Asn | Asp Lys Val Ile Ser | Tyr Gly Asp | | |
| | | 1505 | | 1510 | | 1515 | |
| | cag cct | gca aat cgt tgg tca | aac tgg aaa cgt tct | gaa gaa gct | | | |
| 60 | 4599 | Gln Pro | Ala Asn Arg Trp Ser | Asn Trp Lys Arg Ser | Glu Glu Ala | | |
| | | 1520 | | 1525 | | 1530 | |
| 65 | | | | | | | |
| | tca gta | ggg gta ctc ttt gga | gat tca ggt att ttg | aca aaa cgt | | | |
| | 4644 | Ser Val | Gly Val Leu Phe Gly | Asp Ser Gly Ile Leu | Thr Lys Arg | | |

ES 2 352 704 A1

| | | | |
|----|--|--|----------------------------|
| | 1535 | 1540 | 1545 |
| 5 | tcc gtc gat aac ttg aat gta 4689 Ser Val Asp Asn Leu Asn Val | gca ttt tat gaa gat Ala Phe Tyr Glu Asp | agc ggt gta Ser Gly Val |
| | 1550 | 1555 | 1560 |
| 10 | ggt gct cca aaa tct tac gtc 4734 Gly Ala Pro Lys Ser Tyr Val | att gag tat tat gtt Ile Glu Tyr Tyr Val | ggt gaa aaa Gly Glu Lys |
| 15 | 1565 | 1570 | 1575 |
| | gct cca act gca ccg aag aat 4779 Ala Pro Thr Ala Pro Lys Asn | cct ggt tat gta gag Pro Gly Tyr Val Glu | ggt gaa aac Gly Glu Asn |
| 20 | 1580 | 1585 | 1590 |
| 25 | cac gta ttt aat gac agt aaa 4824 His Val Phe Asn Asp Ser Lys | aat tgg aaa cca gtc Asn Trp Lys Pro Val | aca aat ctt Thr Asn Leu |
| 30 | 1595 | 1600 | 1605 |
| | aag gct cca gat cag tta aaa 4869 Lys Ala Pro Asp Gln Leu Lys | gct gga gaa atg aat Ala Gly Glu Met Asn | cat ttc agt His Phe Ser |
| 35 | 1610 | 1615 | 1620 |
| 40 | ttt gat aag gtg gat acc tac 4914 Phe Asp Lys Val Asp Thr Tyr | gcg gta cgt att cgc Ala Val Arg Ile Arg | atg aca aga Met Thr Arg |
| | 1625 | 1630 | 1635 |
| 45 | gct gat gat aaa ctt gga aca 4959 Ala Asp Asp Lys Leu Gly Thr | tcc att aca gaa tta Ser Ile Thr Glu Leu | caa gtt ttc Gln Val Phe |
| 50 | 1640 | 1645 | 1650 |
| | tct aaa aag gta gca cca gct 5004 Ser Lys Lys Val Ala Pro Ala | aaa gag gca act act Lys Glu Ala Thr Thr | aac att aag Asn Ile Lys |
| 55 | 1655 | 1660 | 1665 |
| 60 | gtt gct gga aaa gat ctt cct 5049 Val Ala Gly Lys Asp Leu Pro | cac ttt aat cca gac His Phe Asn Pro Asp | tta aca gat Leu Thr Asp |
| | 1670 | 1675 | 1680 |
| 65 | | | |

ES 2 352 704 A1

| | | | | |
|----|---------|---------------------|---------------------|-------------|
| | tac tat | tta gac tat agt gat | gga aaa att cca gaa | gta aca gct |
| | 5094 | | | |
| | Tyr Tyr | Leu Asp Tyr Ser Asp | Gly Lys Ile Pro Glu | Val Thr Ala |
| 5 | 1685 | 1690 | 1695 | |
| | agt atc | aca aat aat gga ctt | gct aca gtg gtt cct | agc gtg aaa |
| | 5139 | | | |
| 10 | Ser Ile | Thr Asn Asn Gly Leu | Ala Thr Val Val Pro | Ser Val Lys |
| | 1700 | 1705 | 1710 | |
| | gag ggc | gat cct gtc cgt gtt | att gtg aaa gca gaa | aat ggc gat |
| | 5184 | | | |
| 15 | Glu Gly | Asp Pro Val Arg Val | Ile Val Lys Ala Glu | Asn Gly Asp |
| | 1715 | 1720 | 1725 | |
| 20 | | | | |
| | att ctt | gga gaa tac aac ctt | cac ttt aca aaa gat | aaa gat ttg |
| | 5229 | | | |
| 25 | Ile Leu | Gly Glu Tyr Asn Leu | His Phe Thr Lys Asp | Lys Asp Leu |
| | 1730 | 1735 | 1740 | |
| | ttg gct | cgt aaa cca att gct | tct gca aaa cag tct | caa ttg ttg |
| | 5274 | | | |
| 30 | Leu Ala | Arg Lys Pro Ile Ala | Ser Ala Lys Gln Ser | Gln Leu Leu |
| | 1745 | 1750 | 1755 | |
| 35 | | | | |
| | cag tta | ggg caa cct ttg gaa | ttg cca aat aag gtt | cca gtt tat |
| | 5319 | | | |
| 40 | Gln Leu | Gly Gln Pro Leu Glu | Leu Pro Asn Lys Val | Pro Val Tyr |
| | 1760 | 1765 | 1770 | |
| | ttc gca | ggg aag agc ggt tat | gac gta aaa gat ttg | gca gtt gaa |
| | 5364 | | | |
| 45 | Phe Ala | Gly Lys Ser Gly Tyr | Asp Val Lys Asp Leu | Ala Val Glu |
| | 1775 | 1780 | 1785 | |
| | tgg gaa | aaa gtc cct gct tct | acc tta aac aaa gct | ggg gaa tat |
| | 5409 | | | |
| 50 | Trp Glu | Lys Val Pro Ala Ser | Thr Leu Asn Lys Ala | Gly Glu Tyr |
| | 1790 | 1795 | 1800 | |
| 55 | | | | |
| | aca att | aaa ggc cat gta gtt | ggg agt gag gtc cca | gta gaa tta |
| | 5454 | | | |
| 60 | Thr Ile | Lys Gly His Val Val | Gly Ser Glu Val Pro | Val Glu Leu |
| | 1805 | 1810 | 1815 | |
| | tct gtt | cga gta acg gac aag | gtc ggt aga tca ctt | tct gat aat |
| | 5499 | | | |
| 65 | Ser Val | Arg Val Thr Asp Lys | Val Gly Arg Ser Leu | Ser Asp Asn |

ES 2 352 704 A1

| | | | |
|----|--|--|----------------------------|
| | 1820 | 1825 | 1830 |
| 5 | cca gat tat ctt gct act cat 5544 Pro Asp Tyr Leu Ala Thr His | agt cag gct ttt gct Ser Gln Ala Phe Ala | tca gct act Ser Ala Thr |
| | 1835 | 1840 | 1845 |
| 10 | aat gat ttg gat gat aat tcg 5589 Asn Asp Leu Asp Asp Asn Ser | aac gac cgt gta gac Asn Asp Arg Val Asp | tat tta aat Tyr Leu Asn |
| 15 | 1850 | 1855 | 1860 |
| 20 | gat aat gac cga aat caa gac 5634 Asp Asn Asp Arg Asn Gln Asp | aac cgt tgg aca aac Asn Arg Trp Thr Asn | tgg tcc gct Trp Ser Ala |
| | 1865 | 1870 | 1875 |
| 25 | act cca tct gct aat cca gaa 5679 Thr Pro Ser Ala Asn Pro Glu | gta tca gtt ggt gtt Val Ser Val Gly Val | atc ttt aaa Ile Phe Lys |
| 30 | 1880 | 1885 | 1890 |
| 35 | aag aat ggt aaa att gtg gat 5724 Lys Asn Gly Lys Ile Val Asp | aga aag gtt tca caa Arg Lys Val Ser Gln | gct aaa cta Ala Lys Leu |
| | 1895 | 1900 | 1905 |
| 40 | aac ttc ttt gca gat agt gga 5769 Asn Phe Phe Ala Asp Ser Gly | aca gat gcc cca gct Thr Asp Ala Pro Ala | aaa ctc gta Lys Leu Val |
| | 1910 | 1915 | 1920 |
| 45 | ttg gaa cga tac atc ggt cct 5814 Leu Glu Arg Tyr Ile Gly Pro | gac ttt gat gtt ccg Asp Phe Asp Val Pro | gtt tac tat Val Tyr Tyr |
| 50 | 1925 | 1930 | 1935 |
| 55 | tca aac tac agc tac gaa tca 5859 Ser Asn Tyr Ser Tyr Glu Ser | aat cat cca ttt aat Asn His Pro Phe Asn | aac cct gat Asn Pro Asp |
| | 1940 | 1945 | 1950 |
| 60 | aat tgg gaa ctt gtt cct tat 5904 Asn Trp Glu Leu Val Pro Tyr | tac gca gac aaa gaa Tyr Ala Asp Lys Glu | att caa gct Ile Gln Ala |
| 65 | 1955 | 1960 | 1965 |

ES 2 352 704 A1

| | | | | |
|----|----------------------------|--|--|----------------------------|
| | gga aat 5949 Gly Asn | gag atc aat gtg acc Glu Ile Asn Val Thr | ttt aaa gct gtg act Phe Lys Ala Val Thr | acc aaa gct Thr Lys Ala |
| 5 | 1970 | 1975 | 1980 | |
| | atg aga 5994 Met Arg | tgg cgt atg gac aga Trp Arg Met Asp Arg | aaa gca gat aaa aat Lys Ala Asp Lys Asn | ggg gtt gca Gly Val Ala |
| 10 | 1985 | 1990 | 1995 | |
| | cta act 6039 Leu Thr | gaa tta agt ttc cga Glu Leu Ser Phe Arg | gca cca agt gag ctt Ala Pro Ser Glu Leu | gca aaa gag Ala Lys Glu |
| 15 | 2000 | 2005 | 2010 | |
| | agc aca 6084 Ser Thr | gag gga aga att tta Glu Gly Arg Ile Leu | gta gat ggt aaa gag Val Asp Gly Lys Glu | ctt cct gac Leu Pro Asp |
| 25 | 2015 | 2020 | 2025 | |
| | ttc tct 6129 Phe Ser | gaa aat cgt ttg gac Glu Asn Arg Leu Asp | tat gaa ttg att tat Tyr Glu Leu Ile Tyr | aaa ggg gaa Lys Gly Glu |
| 30 | 2030 | 2035 | 2040 | |
| | cgt cca 6174 Arg Pro | aaa atc act gta gaa Lys Ile Thr Val Glu | ggg aaa gat caa gtc Gly Lys Asp Gln Val | aca tct aca Thr Ser Thr |
| 35 | 2045 | 2050 | 2055 | |
| | att gtg 6219 Ile Val | gat agt gga aat gaa Asp Ser Gly Asn Glu | aat ctt cct gta tta Asn Leu Pro Val Leu | gtc cgt ctg Val Arg Leu |
| 45 | 2060 | 2065 | 2070 | |
| | gta tca 6264 Val Ser | gag agt ggt aag aat Glu Ser Gly Lys Asn | gtc aaa gaa tac cgg Val Lys Glu Tyr Arg | att aaa ttg Ile Lys Leu |
| 50 | 2075 | 2080 | 2085 | |
| | act aag 6309 Thr Lys | gaa aaa gtg ata gac Glu Lys Val Ile Asp | gca aaa ctt gta gct Ala Lys Leu Val Ala | cct gct caa Pro Ala Gln |
| 55 | 2090 | 2095 | 2100 | |
| | tat gac 6354 | ttg cct agt ctt gaa | gtg gta gac aaa gaa | ttg aac ttc |
| 65 | | | | |

ES 2 352 704 A1

| | | | | | | |
|----|-----------------|---------------------|---------------------|-------------|---------|-------------|
| | Tyr Asp | Leu Pro Ser | Leu Glu | Val Val Asp | Lys Glu | Leu Asn Phe |
| | 2105 | | 2110 | | 2115 | |
| 5 | caa act 6399 | ctt gaa caa aaa gac | gat act ctg ttt gag | gga gaa gtt | | |
| | Gln Thr | Leu Glu Gln Lys Asp | Asp Thr Leu Phe Glu | Gly Glu Val | | |
| 10 | 2120 | 2125 | 2130 | | | |
| | cgc ctg 6444 | ttg caa gaa ggt aaa | gtt ggt aag gaa cgt | atc tat aca | | |
| 15 | Arg Leu | Leu Gln Glu Gly Lys | Val Gly Lys Glu Arg | Ile Tyr Thr | | |
| | 2135 | 2140 | 2145 | | | |
| 20 | gaa gta 6489 | acg act gat ggc aag | aat aaa gaa aaa tca | cgt gag att | | |
| | Glu Val | Thr Thr Asp Gly Lys | Asn Lys Glu Lys Ser | Arg Glu Ile | | |
| 25 | 2150 | 2155 | 2160 | | | |
| | ctg gaa 6534 | gaa cct gta aat aga | att ctg ttg gta ggt | act aag aag | | |
| 30 | Leu Glu | Glu Pro Val Asn Arg | Ile Leu Leu Val Gly | Thr Lys Lys | | |
| | 2165 | 2170 | 2175 | | | |
| 35 | aaa aca 6579 | agt aac att gag acg | ccg gcg ggt gga cat | caa gac aat | | |
| | Lys Thr | Ser Asn Ile Glu Thr | Pro Ala Gly Gly His | Gln Asp Asn | | |
| | 2180 | 2185 | 2190 | | | |
| 40 | ggc agc 6624 | agt caa cct acg gaa | caa aaa cca gga gca | aat ccg aat | | |
| | Gly Ser | Ser Gln Pro Thr Glu | Gln Lys Pro Gly Ala | Asn Pro Asn | | |
| 45 | 2195 | 2200 | 2205 | | | |
| | cca aat 6669 | att gtc att cca aat | cca tca aat aat ggt | gtg aca agt | | |
| 50 | Pro Asn | Ile Val Ile Pro Asn | Pro Ser Asn Asn Gly | Val Thr Ser | | |
| | 2210 | 2215 | 2220 | | | |
| 55 | aac agt 6714 | tca gat ttt aaa aat | cat cta tca gtt gct | ccg aac att | | |
| | Asn Ser | Ser Asp Phe Lys Asn | His Leu Ser Val Ala | Pro Asn Ile | | |
| | 2225 | 2230 | 2235 | | | |
| 60 | gtg ata 6759 | caa gct cct act cag | gaa agc aaa aaa cct | gga tgg aac | | |
| | Val Ile | Gln Ala Pro Thr Gln | Glu Ser Lys Lys Pro | Gly Trp Asn | | |
| 65 | 2240 | 2245 | 2250 | | | |

ES 2 352 704 A1

| | | | |
|----|---|------|------|
| | aag gaa gat ggt aaa tgg tat tat cgt caa caa aat ggg gac ttg | | |
| | 6804 | | |
| | Lys Glu Asp Gly Lys Trp Tyr Tyr Arg Gln Gln Asn Gly Asp Leu | | |
| 5 | 2255 | 2260 | 2265 |
| | | | |
| | gct aag ggt tgg gtc aaa gat gga gat act tgg tat tac ttt gat | | |
| | 6849 | | |
| 10 | Ala Lys Gly Trp Val Lys Asp Gly Asp Thr Trp Tyr Tyr Phe Asp | | |
| | 2270 | 2275 | 2280 |
| | | | |
| | caa aca gga aaa atg gaa act ggc tgg att aaa gat caa tca ggt | | |
| | 6894 | | |
| 15 | Gln Thr Gly Lys Met Glu Thr Gly Trp Ile Lys Asp Gln Ser Gly | | |
| | 2285 | 2290 | 2295 |
| 20 | | | |
| | gca tgg tat tac ttg aat caa tca ggt gca atg tca tct aat gag | | |
| | 6939 | | |
| 25 | Ala Trp Tyr Tyr Leu Asn Gln Ser Gly Ala Met Ser Ser Asn Glu | | |
| | 2300 | 2305 | 2310 |
| | | | |
| | tgg att ttg gat caa gat ggt aag tgg tac tat gtt gat gca tca | | |
| | 6984 | | |
| 30 | Trp Ile Leu Asp Gln Asp Gly Lys Trp Tyr Tyr Val Asp Ala Ser | | |
| | 2315 | 2320 | 2325 |
| 35 | | | |
| | ggt tcg atg aag aca agt caa tgg ttc caa gtt gga gac aaa tgg | | |
| | 7029 | | |
| 40 | Gly Ser Met Lys Thr Ser Gln Trp Phe Gln Val Gly Asp Lys Trp | | |
| | 2330 | 2335 | 2340 |
| | | | |
| | tat tat gtt gat gca aat gga tcc ctt gct gtc aat aca gta act | | |
| | 7074 | | |
| 45 | Tyr Tyr Val Asp Ala Asn Gly Ser Leu Ala Val Asn Thr Val Thr | | |
| | 2345 | 2350 | 2355 |
| | | | |
| | ccg gat ggt tat caa gta aat gaa aac ggt gag tgg atc gga taa | | |
| | 7119 | | |
| 50 | Pro Asp Gly Tyr Gln Val Asn Glu Asn Gly Glu Trp Ile Gly | | |
| | 2360 | 2365 | 2370 |
| 55 | | | |

<210> 6

<211> 2372

60 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

65 <223> Synthetic Construct

ES 2 352 704 A1

<400> 6

| | | | | | | | | | | | | | | | | |
|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| 5 | Met | His | His | His | His | His | His | Glu | Asn | Ala | Glu | Glu | Ile | Val | Leu | Thr |
| | 1 | | | | 5 | | | | | 10 | | | | | 15 | |
| 10 | Asn | Arg | Thr | Glu | His | Gln | Ser | Glu | Asn | Leu | Lys | Thr | Thr | Gly | Leu | Ser |
| | | | | 20 | | | | | 25 | | | | | 30 | | |
| 15 | Ser | Glu | His | Lys | Ala | Glu | Gly | Val | Thr | Thr | Glu | Lys | Ala | Ser | Glu | Gln |
| | | | 35 | | | | | 40 | | | | | 45 | | | |
| 20 | Pro | Val | Lys | Ala | Glu | Asn | Val | Ser | Leu | Lys | Glu | Asn | Ala | Asp | Gly | Ser |
| | | 50 | | | | | 55 | | | | | 60 | | | | |
| 25 | Asp | Ala | Val | Val | Lys | Pro | His | Ala | Asp | Gln | Pro | Leu | Val | Ser | Val | Ala |
| | 65 | | | | | 70 | | | | 75 | | | | | | 80 |
| 30 | Asn | Asn | Gln | Ser | Val | Pro | Leu | Glu | Glu | Gly | Lys | Ala | Glu | Val | Glu | Asn |
| | | | | | 85 | | | | | 90 | | | | | 95 | |
| 35 | Lys | Thr | Glu | Glu | Arg | Asn | Lys | Pro | Glu | Asp | Arg | Asn | Lys | Leu | Glu | Glu |
| | | | | 100 | | | | | 105 | | | | | 110 | | |
| 40 | Thr | Asn | Lys | Thr | Glu | Val | Thr | Asp | Lys | Ser | Glu | Asp | Lys | Asn | Lys | Ser |
| | | | 115 | | | | | 120 | | | | | 125 | | | |
| 45 | Glu | Glu | Thr | Asn | Lys | Ala | Glu | Ser | Gln | Asp | Arg | Ser | Val | Ser | Lys | Asp |
| | | 130 | | | | | 135 | | | | | 140 | | | | |
| 50 | Lys | Gln | Glu | Phe | Lys | Ser | Ala | Thr | Asn | Glu | Val | Val | Asp | Lys | Leu | Ile |
| | 145 | | | | | 150 | | | | | 155 | | | | | 160 |
| 55 | Glu | Asp | Arg | Asn | Ile | Ser | Phe | Asn | Gln | Asn | Trp | His | Phe | Lys | Leu | Asn |
| | | | | | 165 | | | | | 170 | | | | | 175 | |
| 60 | Ala | Asn | Ala | Lys | Glu | Ala | Val | Lys | Pro | Asp | Ala | Asp | Ile | Ser | Ser | Trp |
| | | | | 180 | | | | | 185 | | | | | 190 | | |
| 65 | Lys | Lys | Met | Asp | Leu | Pro | His | Asp | Trp | Ser | Ile | His | Phe | Asp | Phe | Asp |
| | | | 195 | | | | | 200 | | | | | 205 | | | |
| 70 | His | Asp | Ser | Pro | Ala | Gln | Asn | Glu | Gly | Gly | Gln | Leu | Asn | Gly | Gly | Asp |
| | | 210 | | | | | 215 | | | | | 220 | | | | |
| 75 | Gly | Trp | Tyr | Arg | Lys | Thr | Phe | Lys | Leu | Asp | Glu | Lys | Asp | Leu | Asn | Lys |
| | 225 | | | | | 230 | | | | | 235 | | | | | 240 |
| 80 | Asp | Val | Arg | Val | Thr | Phe | Asp | Gly | Val | Tyr | Met | Asp | Ser | Gln | Val | Phe |
| | | | | | 245 | | | | | 250 | | | | | 255 | |

ES 2 352 704 A1

| | | | | | | | | | | | | | | | | |
|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| | Val | Asn | Gly | Gln | Leu | Val | Gly | His | Tyr | Pro | Asn | Gly | Tyr | Asn | Gln | Phe |
| | | | | 260 | | | | | 265 | | | | | 270 | | |
| 5 | Ser | Tyr | Asp | Ile | Ser | Asn | Tyr | Leu | His | Lys | Asp | Gly | Arg | Glu | Asn | Val |
| | | | 275 | | | | | 280 | | | | | 285 | | | |
| 10 | Ile | Ser | Val | His | Ala | Val | Asn | Lys | Gln | Pro | Ser | Ser | Arg | Trp | Tyr | Ser |
| | | 290 | | | | | 295 | | | | | 300 | | | | |
| 15 | Gly | Ser | Gly | Ile | Tyr | Arg | Asp | Val | Ser | Leu | Gln | Val | Thr | Asp | Lys | Ile |
| | 305 | | | | | 310 | | | | | 315 | | | | | 320 |
| | His | Val | Glu | Lys | Asn | Gly | Thr | Thr | Ile | Leu | Thr | Pro | Lys | Leu | Glu | Ser |
| | | | | 325 | | | | | | 330 | | | | | 335 | |
| 20 | Gln | Gln | Gly | Gly | Lys | Val | Glu | Thr | Gln | Val | Ser | Ser | Lys | Ile | Val | Asn |
| | | | | 340 | | | | | 345 | | | | | 350 | | |
| 25 | Thr | Asp | Asn | Lys | Asp | His | Glu | Ile | Val | Ala | Glu | Tyr | Gln | Ile | Phe | Glu |
| | | | 355 | | | | | 360 | | | | | 365 | | | |
| 30 | Arg | Gly | Gly | Lys | Ala | Val | Thr | Glu | Leu | Val | Arg | Thr | Glu | Ser | Lys | Thr |
| | | 370 | | | | | 375 | | | | | 380 | | | | |
| 35 | Leu | Lys | Ala | Lys | Glu | Thr | Ile | His | Leu | Asp | Ser | Ala | Leu | Glu | Val | Glu |
| | 385 | | | | | 390 | | | | | 395 | | | | | 400 |
| | Lys | Pro | Lys | Leu | Trp | Thr | Val | Ser | Ser | Asp | Lys | Pro | Ala | Leu | Tyr | Glu |
| | | | | 405 | | | | | | 410 | | | | | 415 | |
| 40 | Met | Val | Thr | Arg | Val | Tyr | Lys | Asp | Gly | Gln | Leu | Val | Asp | Ala | Lys | Lys |
| | | | | 420 | | | | | 425 | | | | | 430 | | |
| 45 | Asp | Leu | Phe | Gly | Tyr | Arg | Tyr | Tyr | Asn | Trp | Thr | Pro | Asp | Gln | Gly | Phe |
| | | | 435 | | | | | 440 | | | | | 445 | | | |
| 50 | Ser | Leu | Asn | Gly | Glu | His | Ile | Lys | Phe | His | Gly | Val | Ser | Leu | His | His |
| | | 450 | | | | | 455 | | | | | 460 | | | | |
| 55 | Asp | His | Gly | Ala | Leu | Gly | Ala | Glu | Glu | Asn | Tyr | Lys | Ala | Glu | Tyr | Arg |
| | 465 | | | | | 470 | | | | | 475 | | | | | 480 |
| | Arg | Leu | Lys | Gln | Met | Lys | Glu | Met | Gly | Val | Asn | Ser | Ile | Arg | Thr | Thr |
| | | | | 485 | | | | | | 490 | | | | | 495 | |
| 60 | His | Asn | Pro | Ala | Ser | Pro | Gln | Thr | Leu | Gln | Ile | Ala | Ala | Glu | Leu | Gly |
| | | | | 500 | | | | | 505 | | | | | 510 | | |
| 65 | Leu | Leu | Val | Gln | Glu | Glu | Ala | Phe | Asp | Thr | Trp | Tyr | Gly | Gly | Lys | Lys |

ES 2 352 704 A1

| | 515 | | 520 | | 525 | | | | | | | | | | | | |
|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|
| 5 | Pro | Tyr | Asp | Tyr | Gly | Arg | Phe | Phe | Glu | Lys | Asp | Ala | Thr | His | Pro | Glu | |
| | 530 | | | | | | 535 | | | | | 540 | | | | | |
| 10 | Ala | Arg | Lys | Gly | Glu | Lys | Trp | Ser | Asp | Tyr | Asp | Leu | Arg | Thr | Met | Val | |
| | 545 | | | | | 550 | | | | | 555 | | | | | 560 | |
| 15 | Glu | Arg | Asp | Lys | Asn | Asn | Pro | Ala | Val | Val | Met | Trp | Ser | Ile | Gly | Asn | |
| | | | | | 565 | | | | | | 570 | | | | 575 | | |
| 20 | Glu | Ile | Gly | Glu | Ala | Asp | Gly | Lys | Ala | His | Ser | Leu | Val | Thr | Val | Lys | |
| | | | | 580 | | | | | 585 | | | | | 590 | | | |
| 25 | Arg | Leu | Val | Lys | Val | Val | Lys | Ser | Val | Asp | Lys | Thr | Arg | Tyr | Val | Thr | |
| | | | 595 | | | | | 600 | | | | | 605 | | | | |
| 30 | Met | Gly | Ala | Asp | Lys | Phe | Arg | Phe | Gly | Asp | Gly | Thr | Gly | Asp | His | Glu | |
| | 610 | | | | | | 615 | | | | | 620 | | | | | |
| 35 | Lys | Ile | Ala | Asp | Glu | Leu | Asp | Ala | Val | Gly | Leu | Asn | Tyr | Ser | Glu | Glu | |
| | 625 | | | | | 630 | | | | | 635 | | | | | 640 | |
| 40 | Asn | Tyr | Gln | Thr | Leu | His | Ala | Lys | His | Pro | Lys | Trp | Leu | Ile | Tyr | Gly | |
| | | | | | 645 | | | | | 650 | | | | | 655 | | |
| 45 | Ser | Glu | Thr | Ser | Ser | Ala | Thr | Arg | Thr | Arg | Gly | Ser | Tyr | Phe | His | Pro | |
| | | | | 660 | | | | | 665 | | | | | 670 | | | |
| 50 | Glu | Ser | Glu | Trp | Val | Gly | Ser | Asn | Gln | Tyr | Trp | Arg | Asn | Tyr | Glu | Gln | |
| | | | 675 | | | | | 680 | | | | | 685 | | | | |
| 55 | Ser | Asp | Tyr | Gly | Asn | Asp | Arg | Val | Gly | Trp | Gly | Lys | Thr | Ala | Thr | Ala | |
| | 690 | | | | | | 695 | | | | | 700 | | | | | |
| 60 | Ser | Trp | Thr | Phe | Asp | Arg | Asp | His | Pro | Gly | Tyr | Ala | Gly | Gln | Phe | Ile | |
| | 705 | | | | | 710 | | | | | 715 | | | | 720 | | |
| 65 | Trp | Thr | Gly | Thr | Asp | Tyr | Ile | Gly | Glu | Pro | Thr | Pro | Trp | His | Asn | Gln | |
| | | | | | 725 | | | | | 730 | | | | | 735 | | |
| 70 | Asn | Ser | Thr | Pro | Val | Lys | Ser | Ser | Tyr | Phe | Gly | Ile | Val | Asp | Thr | Ala | |
| | | | | 740 | | | | | 745 | | | | | 750 | | | |
| 75 | Gly | Ile | Pro | Lys | Asn | Asp | Tyr | Tyr | Leu | Tyr | Gln | Ser | Gln | Trp | Val | Ser | |
| | | | 755 | | | | | 760 | | | | | 765 | | | | |
| 80 | Ala | Lys | Lys | Lys | Pro | Met | Val | His | Leu | Leu | Pro | His | Trp | Asn | Trp | Glu | |
| | 770 | | | | | | 775 | | | | | 780 | | | | | |

ES 2 352 704 A1

Lys Thr Glu Leu Ala Asp Asn Val Ala Asp Ala Glu Asn Arg Ile Pro
 785 790 795 800
 5 Val Arg Ala Tyr Ser Asn Ala Ala Ser Val Glu Leu Phe Leu Asn Asn
 805 810 815
 10 Glu Ser Leu Gly Leu Lys Lys Phe Asn Lys Lys Gln Thr Ser Asp Gly
 820 825 830
 15 Arg Thr Tyr Gln Glu Gly Glu Asn Pro Gln Glu Leu Tyr Leu Glu Trp
 835 840 845
 20 Lys Val Ala Tyr Lys Pro Gly Thr Leu Glu Ala Val Ala Arg Asp Glu
 850 855 860
 25 Ser Gly Lys Glu Ile Ala Arg Asp Lys Ile Val Thr Ala Gly Glu Pro
 865 870 875 880
 30 Ala Gly Val Arg Leu Val Lys Glu Glu Asn Ala Ile Ala Ala Asp Gly
 885 890 895
 35 Lys Asp Leu Thr Tyr Ile Tyr Tyr Glu Ile Val Asp Ser Lys Gly Asn
 900 905 910
 40 Val Val Pro Thr Ala Asn Asn Leu Val His Phe Gln Leu His Gly Gln
 915 920 925
 45 Gly Gln Leu Val Gly Val Asp Asn Gly Glu Gln Ala Ser Arg Glu Arg
 930 935 940
 50 Tyr Lys Glu Gln Ala Asp Gly Ser Trp Ile Arg Arg Ala Phe Asn Gly
 945 950 955 960
 55 Lys Gly Val Ala Ile Val Lys Ser Thr Asp Gln Ala Gly Lys Phe Thr
 965 970 975
 60 Leu Thr Ala Tyr Ser Gly Leu Leu Lys Ser Asp Gln Val Thr Val Phe
 980 985 990
 65 Thr Gly Lys Ser Asp Gln Ser Glu Lys Thr Val Leu Gly Thr Glu Ile
 995 1000 1005
 Pro Lys Val Arg Thr Val Leu Gly Gln Lys Leu Lys Met Pro Gln
 1010 1015 1020
 60 Thr Val Pro Phe Val Tyr Ser Asp Gly Ser Arg Glu Lys Arg Pro
 1025 1030 1035
 65 Val Thr Trp Ser Gln Ala Asp Val Ser Gln Ala Gly Ile Val Thr

ES 2 352 704 A1

| | 1040 | | | | | 1045 | | | | | 1050 | | | | |
|----|------|-------------|-----|-----|-----|------|-------------|-----|-----|-----|------|-------------|-----|-----|-----|
| 5 | Val | Lys 1055 | Gly | Met | Ser | Asp | Gly 1060 | Arg | Glu | Val | Glu | Ala 1065 | Arg | Val | Glu |
| 10 | Val | Leu 1070 | Thr | Val | Ala | Asn | Glu 1075 | Leu | Pro | Ala | Val | Lys 1080 | Arg | Ile | Thr |
| 15 | Pro | Gly 1085 | Thr | Asp | Leu | Ser | Ser 1090 | Val | Asp | Lys | Leu | Val 1095 | Ser | Leu | Val |
| 20 | Ser | Thr 1100 | Asp | Gly | Arg | Ile | His 1105 | Asn | Tyr | Glu | Val | Glu 1110 | Asn | Trp | Glu |
| 25 | Ile | Ser 1115 | Pro | Glu | Asp | Lys | Glu 1120 | Lys | Leu | Ser | Thr | Pro 1125 | Gly | Ala | His |
| 30 | Ile | Gln 1130 | Met | Thr | Ser | Gln | Leu 1135 | Gly | Asp | Arg | Thr | Ile 1140 | His | Ala | Thr |
| 35 | Leu | Ile 1145 | Val | Asp | Asp | Gly | Lys 1150 | Glu | Leu | Ser | Gln | Val 1155 | Thr | Pro | Asn |
| 40 | Ile | Ala 1160 | Val | Gly | Gly | Glu | Ser 1165 | Val | Thr | Glu | Leu | Ser 1170 | Lys | Glu | His |
| 45 | Pro | Val 1175 | His | Tyr | His | Lys | Leu 1180 | Ser | Tyr | Gly | Ala | Lys 1185 | Ile | Pro | Glu |
| 50 | Val | Ser 1190 | Ala | Ser | Ala | Glu | Asn 1195 | Ala | Asp | Val | Asn | Val 1200 | Ile | Gln | Ala |
| 55 | Asn | Glu 1205 | Ser | Asn | Gly | Met | Arg 1210 | Ala | Ser | Ile | Tyr | Ile 1215 | Gln | Pro | Lys |
| 60 | Asp | Gly 1220 | Gly | Gln | Leu | Gln | Thr 1225 | Tyr | Ala | Val | Gln | Phe 1230 | Leu | Val | Asp |
| 65 | Ser | Pro 1235 | Gln | Ile | Glu | Ser | Leu 1240 | Ser | Leu | Arg | Val | Asp 1245 | Gln | Val | Ser |
| 70 | Ser | Leu 1250 | Lys | Glu | Asp | Gln | Thr 1255 | Val | Lys | Val | Thr | Val 1260 | Leu | Ala | Arg |
| 75 | Tyr | Gln 1265 | Asp | Gly | Thr | Glu | Ala 1270 | Ile | Leu | Pro | Thr | Asp 1275 | Lys | Val | Thr |
| 80 | Phe | Ser 1280 | Ser | Gln | Gly | Glu | Gly 1285 | Gly | Val | Ser | Val | Asn 1290 | Lys | Gly | Met |

ES 2 352 704 A1

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|----|-----|------|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|
| | Leu | Glu | Leu | His | Lys | Pro | Gly | Ser | Leu | Thr | Leu | Gln | Ala | Gln | Tyr |
| | | 1295 | | | | | 1300 | | | | | 1305 | | | |
| 5 | Glu | Gly | Ala | Lys | Gly | Glu | Leu | Pro | Leu | Thr | Ile | Ala | Ala | Asn | Thr |
| | | 1310 | | | | | 1315 | | | | | 1320 | | | |
| 10 | Glu | Asp | Lys | Val | Val | Gln | Ala | Ile | Arg | Pro | Val | Ser | Leu | Val | Thr |
| | | 1325 | | | | | 1330 | | | | | 1335 | | | |
| 15 | Asp | Leu | His | Gln | Thr | Pro | Asn | Leu | Pro | Ser | Thr | Val | Thr | Val | Glu |
| | | 1340 | | | | | 1345 | | | | | 1350 | | | |
| 20 | Tyr | Asp | Lys | Gly | Phe | Pro | Lys | Val | His | Lys | Val | Val | Trp | Asp | Ser |
| | | 1355 | | | | | 1360 | | | | | 1365 | | | |
| 25 | Ile | Pro | Ser | Glu | Lys | Leu | Asn | Gln | Tyr | His | Thr | Phe | Glu | Val | Leu |
| | | 1370 | | | | | 1375 | | | | | 1380 | | | |
| 30 | Gly | Lys | Val | Glu | Gly | Leu | Asn | Gln | Glu | Ala | Arg | Ala | Thr | Val | Ser |
| | | 1385 | | | | | 1390 | | | | | 1395 | | | |
| 35 | Val | Glu | Gly | Ile | Val | Lys | Val | Glu | Asp | Val | Ser | Ile | Thr | Thr | Pro |
| | | 1400 | | | | | 1405 | | | | | 1410 | | | |
| 40 | Ile | Ser | Glu | Ala | Pro | Thr | Leu | Pro | Glu | Ser | Val | Arg | Thr | Tyr | Tyr |
| | | 1415 | | | | | 1420 | | | | | 1425 | | | |
| 45 | Ser | Asn | Gly | Gln | Val | Ser | Ser | Ala | Lys | Val | Ala | Trp | Asp | Thr | Ile |
| | | 1430 | | | | | 1435 | | | | | 1440 | | | |
| 50 | Asp | Ala | Ser | Gln | Tyr | Ala | Lys | Glu | Gly | Ile | Phe | Thr | Val | Thr | Gly |
| | | 1445 | | | | | 1450 | | | | | 1455 | | | |
| 55 | His | Val | Glu | Gly | Thr | Gln | Leu | Thr | Thr | Lys | Leu | His | Val | Arg | Val |
| | | 1460 | | | | | 1465 | | | | | 1470 | | | |
| 60 | Ser | Ser | Gln | Thr | Glu | Ile | Gly | Lys | Asn | Ile | Ser | Asp | Gln | Trp | Thr |
| | | 1475 | | | | | 1480 | | | | | 1485 | | | |
| 65 | Gly | Ser | Glu | Leu | Pro | Leu | Ala | Phe | Ala | Ser | Asp | Ser | His | Ser | Tyr |
| | | 1490 | | | | | 1495 | | | | | 1500 | | | |
| 70 | Asp | Pro | Val | Ser | Asn | Val | Asn | Asp | Lys | Val | Ile | Ser | Tyr | Gly | Asp |
| | | 1505 | | | | | 1510 | | | | | 1515 | | | |
| 75 | Gln | Pro | Ala | Asn | Arg | Trp | Ser | Asn | Trp | Lys | Arg | Ser | Glu | Glu | Ala |
| | | 1520 | | | | | 1525 | | | | | 1530 | | | |
| 80 | Ser | Val | Gly | Val | Leu | Phe | Gly | Asp | Ser | Gly | Ile | Leu | Thr | Lys | Arg |

ES 2 352 704 A1

| | 1535 | | | | | 1540 | | | | | | 1545 | | | |
|----|------|-------------|-----|-----|-----|------|-------------|-----|-----|-----|-----|-------------|-----|-----|-----|
| 5 | Ser | Val 1550 | Asp | Asn | Leu | Asn | Val 1555 | Ala | Phe | Tyr | Glu | Asp 1560 | Ser | Gly | Val |
| 10 | Gly | Ala 1565 | Pro | Lys | Ser | Tyr | Val 1570 | Ile | Glu | Tyr | Tyr | Val 1575 | Gly | Glu | Lys |
| 15 | Ala | Pro 1580 | Thr | Ala | Pro | Lys | Asn 1585 | Pro | Gly | Tyr | Val | Glu 1590 | Gly | Glu | Asn |
| 20 | His | Val 1595 | Phe | Asn | Asp | Ser | Lys 1600 | Asn | Trp | Lys | Pro | Val 1605 | Thr | Asn | Leu |
| 25 | Lys | Ala 1610 | Pro | Asp | Gln | Leu | Lys 1615 | Ala | Gly | Glu | Met | Asn 1620 | His | Phe | Ser |
| 30 | Phe | Asp 1625 | Lys | Val | Asp | Thr | Tyr 1630 | Ala | Val | Arg | Ile | Arg 1635 | Met | Thr | Arg |
| 35 | Ala | Asp 1640 | Asp | Lys | Leu | Gly | Thr 1645 | Ser | Ile | Thr | Glu | Leu 1650 | Gln | Val | Phe |
| 40 | Ser | Lys 1655 | Lys | Val | Ala | Pro | Ala 1660 | Lys | Glu | Ala | Thr | Thr 1665 | Asn | Ile | Lys |
| 45 | Val | Ala 1670 | Gly | Lys | Asp | Leu | Pro 1675 | His | Phe | Asn | Pro | Asp 1680 | Leu | Thr | Asp |
| 50 | Tyr | Tyr 1685 | Leu | Asp | Tyr | Ser | Asp 1690 | Gly | Lys | Ile | Pro | Glu 1695 | Val | Thr | Ala |
| 55 | Ser | Ile 1700 | Thr | Asn | Asn | Gly | Leu 1705 | Ala | Thr | Val | Val | Pro 1710 | Ser | Val | Lys |
| 60 | Glu | Gly 1715 | Asp | Pro | Val | Arg | Val 1720 | Ile | Val | Lys | Ala | Glu 1725 | Asn | Gly | Asp |
| 65 | Ile | Leu 1730 | Gly | Glu | Tyr | Asn | Leu 1735 | His | Phe | Thr | Lys | Asp 1740 | Lys | Asp | Leu |
| | Leu | Ala 1745 | Arg | Lys | Pro | Ile | Ala 1750 | Ser | Ala | Lys | Gln | Ser 1755 | Gln | Leu | Leu |
| | Gln | Leu 1760 | Gly | Gln | Pro | Leu | Glu 1765 | Leu | Pro | Asn | Lys | Val 1770 | Pro | Val | Tyr |
| | Phe | Ala 1775 | Gly | Lys | Ser | Gly | Tyr 1780 | Asp | Val | Lys | Asp | Leu 1785 | Ala | Val | Glu |

ES 2 352 704 A1

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|----|-----|-------------|-----|-----|-----|-----|-------------|-----|-----|-----|-----|-------------|-----|-----|-----|
| | Trp | Glu 1790 | Lys | Val | Pro | Ala | Ser 1795 | Thr | Leu | Asn | Lys | Ala 1800 | Gly | Glu | Tyr |
| 5 | Thr | Ile 1805 | Lys | Gly | His | Val | Val 1810 | Gly | Ser | Glu | Val | Pro 1815 | Val | Glu | Leu |
| 10 | Ser | Val 1820 | Arg | Val | Thr | Asp | Lys 1825 | Val | Gly | Arg | Ser | Leu 1830 | Ser | Asp | Asn |
| 15 | Pro | Asp 1835 | Tyr | Leu | Ala | Thr | His 1840 | Ser | Gln | Ala | Phe | Ala 1845 | Ser | Ala | Thr |
| | Asn | Asp 1850 | Leu | Asp | Asp | Asn | Ser 1855 | Asn | Asp | Arg | Val | Asp 1860 | Tyr | Leu | Asn |
| 20 | Asp | Asn 1865 | Asp | Arg | Asn | Gln | Asp 1870 | Asn | Arg | Trp | Thr | Asn 1875 | Trp | Ser | Ala |
| 25 | Thr | Pro 1880 | Ser | Ala | Asn | Pro | Glu 1885 | Val | Ser | Val | Gly | Val 1890 | Ile | Phe | Lys |
| 30 | Lys | Asn 1895 | Gly | Lys | Ile | Val | Asp 1900 | Arg | Lys | Val | Ser | Gln 1905 | Ala | Lys | Leu |
| 35 | Asn | Phe 1910 | Phe | Ala | Asp | Ser | Gly 1915 | Thr | Asp | Ala | Pro | Ala 1920 | Lys | Leu | Val |
| | Leu | Glu 1925 | Arg | Tyr | Ile | Gly | Pro 1930 | Asp | Phe | Asp | Val | Pro 1935 | Val | Tyr | Tyr |
| 40 | Ser | Asn 1940 | Tyr | Ser | Tyr | Glu | Ser 1945 | Asn | His | Pro | Phe | Asn 1950 | Asn | Pro | Asp |
| 45 | Asn | Trp 1955 | Glu | Leu | Val | Pro | Tyr 1960 | Tyr | Ala | Asp | Lys | Glu 1965 | Ile | Gln | Ala |
| 50 | Gly | Asn 1970 | Glu | Ile | Asn | Val | Thr 1975 | Phe | Lys | Ala | Val | Thr 1980 | Thr | Lys | Ala |
| 55 | Met | Arg 1985 | Trp | Arg | Met | Asp | Arg 1990 | Lys | Ala | Asp | Lys | Asn 1995 | Gly | Val | Ala |
| | Leu | Thr 2000 | Glu | Leu | Ser | Phe | Arg 2005 | Ala | Pro | Ser | Glu | Leu 2010 | Ala | Lys | Glu |
| 60 | Ser | Thr 2015 | Glu | Gly | Arg | Ile | Leu 2020 | Val | Asp | Gly | Lys | Glu 2025 | Leu | Pro | Asp |
| 65 | Phe | Ser | Glu | Asn | Arg | Leu | Asp | Tyr | Glu | Leu | Ile | Tyr | Lys | Gly | Glu |

ES 2 352 704 A1

| | 2030 | | | | | 2035 | | | | | 2040 | | | | |
|----|------|-----|-----|-----|-----|------|------|-----|-----|-----|------|------|-----|-----|-----|
| 5 | Arg | Pro | Lys | Ile | Thr | Val | Glu | Gly | Lys | Asp | Gln | Val | Thr | Ser | Thr |
| | 2045 | | | | | | 2050 | | | | | 2055 | | | |
| 10 | Ile | Val | Asp | Ser | Gly | Asn | Glu | Asn | Leu | Pro | Val | Leu | Val | Arg | Leu |
| | 2060 | | | | | | 2065 | | | | | 2070 | | | |
| 15 | Val | Ser | Glu | Ser | Gly | Lys | Asn | Val | Lys | Glu | Tyr | Arg | Ile | Lys | Leu |
| | 2075 | | | | | | 2080 | | | | | 2085 | | | |
| 20 | Thr | Lys | Glu | Lys | Val | Ile | Asp | Ala | Lys | Leu | Val | Ala | Pro | Ala | Gln |
| | 2090 | | | | | | 2095 | | | | | 2100 | | | |
| 25 | Tyr | Asp | Leu | Pro | Ser | Leu | Glu | Val | Val | Asp | Lys | Glu | Leu | Asn | Phe |
| | 2105 | | | | | | 2110 | | | | | 2115 | | | |
| 30 | Gln | Thr | Leu | Glu | Gln | Lys | Asp | Asp | Thr | Leu | Phe | Glu | Gly | Glu | Val |
| | 2120 | | | | | | 2125 | | | | | 2130 | | | |
| 35 | Arg | Leu | Leu | Gln | Glu | Gly | Lys | Val | Gly | Lys | Glu | Arg | Ile | Tyr | Thr |
| | 2135 | | | | | | 2140 | | | | | 2145 | | | |
| 40 | Glu | Val | Thr | Thr | Asp | Gly | Lys | Asn | Lys | Glu | Lys | Ser | Arg | Glu | Ile |
| | 2150 | | | | | | 2155 | | | | | 2160 | | | |
| 45 | Leu | Glu | Glu | Pro | Val | Asn | Arg | Ile | Leu | Leu | Val | Gly | Thr | Lys | Lys |
| | 2165 | | | | | | 2170 | | | | | 2175 | | | |
| 50 | Lys | Thr | Ser | Asn | Ile | Glu | Thr | Pro | Ala | Gly | Gly | His | Gln | Asp | Asn |
| | 2180 | | | | | | 2185 | | | | | 2190 | | | |
| 55 | Gly | Ser | Ser | Gln | Pro | Thr | Glu | Gln | Lys | Pro | Gly | Ala | Asn | Pro | Asn |
| | 2195 | | | | | | 2200 | | | | | 2205 | | | |
| 60 | Pro | Asn | Ile | Val | Ile | Pro | Asn | Pro | Ser | Asn | Asn | Gly | Val | Thr | Ser |
| | 2210 | | | | | | 2215 | | | | | 2220 | | | |
| 65 | Asn | Ser | Ser | Asp | Phe | Lys | Asn | His | Leu | Ser | Val | Ala | Pro | Asn | Ile |
| | 2225 | | | | | | 2230 | | | | | 2235 | | | |
| 70 | Val | Ile | Gln | Ala | Pro | Thr | Gln | Glu | Ser | Lys | Lys | Pro | Gly | Trp | Asn |
| | 2240 | | | | | | 2245 | | | | | 2250 | | | |
| 75 | Lys | Glu | Asp | Gly | Lys | Trp | Tyr | Tyr | Arg | Gln | Gln | Asn | Gly | Asp | Leu |
| | 2255 | | | | | | 2260 | | | | | 2265 | | | |
| 80 | Ala | Lys | Gly | Trp | Val | Lys | Asp | Gly | Asp | Thr | Trp | Tyr | Tyr | Phe | Asp |
| | 2270 | | | | | | 2275 | | | | | 2280 | | | |

ES 2 352 704 A1

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|----|-----|------|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|
| | Gln | Thr | Gly | Lys | Met | Glu | Thr | Gly | Trp | Ile | Lys | Asp | Gln | Ser | Gly |
| | | 2285 | | | | | 2290 | | | | | 2295 | | | |
| 5 | Ala | Trp | Tyr | Tyr | Leu | Asn | Gln | Ser | Gly | Ala | Met | Ser | Ser | Asn | Glu |
| | | 2300 | | | | | 2305 | | | | | 2310 | | | |
| 10 | Trp | Ile | Leu | Asp | Gln | Asp | Gly | Lys | Trp | Tyr | Tyr | Val | Asp | Ala | Ser |
| | | 2315 | | | | | 2320 | | | | | 2325 | | | |
| 15 | Gly | Ser | Met | Lys | Thr | Ser | Gln | Trp | Phe | Gln | Val | Gly | Asp | Lys | Trp |
| | | 2330 | | | | | 2335 | | | | | 2340 | | | |
| 20 | Tyr | Tyr | Val | Asp | Ala | Asn | Gly | Ser | Leu | Ala | Val | Asn | Thr | Val | Thr |
| | | 2345 | | | | | 2350 | | | | | 2355 | | | |
| 25 | Pro | Asp | Gly | Tyr | Gln | Val | Asn | Glu | Asn | Gly | Glu | Trp | Ile | Gly | |
| | | 2360 | | | | | 2365 | | | | | 2370 | | | |
| 30 | | | | | | | | | | | | | | | |
| 35 | | | | | | | | | | | | | | | |
| 40 | | | | | | | | | | | | | | | |
| 45 | | | | | | | | | | | | | | | |
| 50 | | | | | | | | | | | | | | | |
| 55 | | | | | | | | | | | | | | | |
| 60 | | | | | | | | | | | | | | | |
| 65 | | | | | | | | | | | | | | | |



OFICINA ESPAÑOLA
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

②① N.º solicitud:200802310

②② Fecha de presentación de la solicitud: 08.08.2008

③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤① Int. Cl.: **C12N15/56** (01.01.2006)
C12N9/38 (01.01.2006)

DOCUMENTOS RELEVANTES

| Categoría | Documentos citados | Reivindicaciones afectadas |
|-----------|--|----------------------------|
| X | WO 2004 092209 A2 (INTERCELL AG) 28.10.2004, secuencia 34. | 1 |
| X | VICKERMAN, M.M. et al. Genome-wide transcriptional changes in Streptococcus gordonii in response to competence signaling peptide. JOURNAL OF BACTERIOLOGY. 2007. Volumen 189, No. 21, páginas: 7799-7807. DOI: 10.1128/JB.01023-07. Ver resumen, introducción, resultados y discusión. | 9 |
| X | PARMJIT S PANESAR et al. Microbial production, immobilization and applications of β -D-galactosidase. JOURNAL OF CHEMICAL TECHNOLOGY AND BIOTECHNOLOGY. 04.2006. Vol. 81, pág. 560-543. DOI:10.1002/jctb.1453. Ver resumen e introducción. | 13,18 |
| X | PIVARNIK, L.F. et al. Hidrolitic and transgalactosylic activities of commercial β -Galactosidase in food processing. ADVANCES FOOD AND NUTRITION RESEARCH. 1995. vol. 38, pág. 1-102. | 13,18 |
| A | MADOZ, J. et al. Functionalization of Gold Surfaces for Specific and Reversible Attachment of a Fused β -Galactosidase and Choline-Receptor Protein. J. AMERICAN CHEMICAL SOCIETY. 05.02.1997. Volumen 119, pág. 1043-1051. DOI: 10.1021/ja963465r. Resumen e introducción. | 1-21 |

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

☒ para todas las reivindicaciones

☐ para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe
16.11.2010

Examinador
I. Abad Gurumeta

Página
1/5

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

C12N

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, BIOSIS, EMBASE, EMBL ALL, WIPI, NPL

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 16.11.2010

Declaración**Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)**

Reivindicaciones 2-8; 10-21

SI

Reivindicaciones 1; 9

NO**Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)**

Reivindicaciones 2-8; 10-12; 14-17

SI

Reivindicaciones 1; 9; 13; 18; 19-21

NO

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de aplicación industrial. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

Base de la Opinión.-

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como se publica.

1. Documentos considerados.-

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

| Documento | Número Publicación o Identificación | Fecha Publicación |
|-----------|---|-------------------|
| D01 | WO 2004 092209 A2 (INTERCELL AG). | 28.10.2004 |
| D02 | VICKERMAN, M.M. et al. Genome-wide transcriptional changes in <i>Streptococcus gordonii</i> in response to competence signaling peptide. JOURNAL OF BACTERIOLOGY. Volumen 189, No. 21, páginas: 7799-7807. | 2007 |
| D03 | PARMJIT S PANESAR et al. Microbial production, immobilization and applications of β -D-galactosidase. JOURNAL OF CHEMICAL TECHNOLOGY AND BIOTECHNOLOGY. Vol. 81, pág. 560-543. | 04.2006 |
| D04 | PIVARNIK, L.F. et al. Hidrolitic and transgalactosylic activities of commercial β -Galactosidase in food processing. ADVANCES FOOD AND NUTRITION RESEARCH. | 1995 |
| D05 | MADOZ, J. et al. Functionalization of Gold Surfaces for Specific and Reversible Attachment of a Fused β -Galactosidase and Choline-Receptor Protein. J. AMERICAN CHEMICAL SOCIETY. Volumen 119, pág. 1043-1051. | 05.02.1997 |

2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de Patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración

El objeto de la invención, tal y como se recoge en las reivindicaciones 1-21, es una secuencia de nucleótidos de β -galactosidasa, SEQ ID NO1, sin péptido señal, SEQ ID NO3, o modificada, SEQ ID NO5, (ver reivindicaciones 1-5), su construcción genética (reivindicación 6) y vector de expresión (reivindicación 7-8). La secuencia de aminoácidos de β -galactosidasa e *S.mits*, SEQ ID NO2, sin péptido señal, SEQ ID NO4, o modificada SEQ ID NO6 (reivindicaciones 9-12). Así como las células huésped resultantes de las anteriores (reivindicaciones 14-16). También tiene por objeto el uso de la secuencia de aminoácidos y célula huésped para la reducción del contenido de lactosa en alimentos (reivindicación 13 y 18). Otro objeto de la invención es el procedimiento de obtención de la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO2 y SEQ ID NO6 (reivindicaciones 19-21)

El documento D01 publica las secuencias nucleótidas aisladas que codifican un suero de reactivos antígenos o fragmentos de *Streptococcus pneumoniae*. (Ver resumen y secuencia 34).

El documento D02 publica el genoma de *Streptococcus gordinii* y su transcripción peptídica. (Ver resumen, introducción, resultados y discusión)

El documento D03 publica el uso de la β -galactosidasa como enzima en procesos alimenticios, ya que cataliza la hidrólisis de lactosa. El aislamiento, inmovilización y purificación en el problema sobre el que se centra, así como su utilización para hidrólisis de la lactosa en la leche y otras aplicaciones. (Ver resumen e introducción)

El documento D04 divulga el uso de la β -galactosidasa en procesos de hidrólisis de la lactosa en su aplicación en alimentación, en particular, en la obtención de productos y subproductos lácteos. (Ver páginas 1-102)

El documento D05 publica un método de inmovilización de proteínas en electrodos de oro, usado para la purificación de proteínas por unión a colinas. (Ver resumen e introducción)

1. NOVEDAD (ART. 6.1 Ley 11/1986)

El documento D01 divulga la secuencia SEQ ID NO:1 con una identidad superior al 73 % en la secuenciación de las secuencias nucleótidas de *Streptococcus pneumoniae*. (Ver secuencia 34)

La reivindicación 1 de la solicitud reivindica la secuencia de nucleótidos de la β -galactosidasa SEQ ID NO:1, secuencia análoga, un fragmento de cualquiera de las dos o una secuencia análoga de cualquiera de las tres anteriores. Por tanto, la secuencia objeto de la invención recogido en la reivindicación 1 ha sido divulgado en el documento D01, ya que un fragmento de la misma ha sido divulgado. Por consiguiente, la reivindicación 1 no es nueva en el sentido del artículo 6.1 Ley 11/1986

El documento D02 publica la secuencia SEQ ID NO:2 con una identidad superior al 73 % al realizar la transcripción peptídica del genoma de *Streptococcus gordinii* (Ver resumen, introducción, resultados y discusión).

La reivindicación 9 de la solicitud reivindica la secuencia de aminoácidos de la β -galactosidasa SEQ ID NO:2, secuencia análoga, un fragmento de cualquiera de las dos o una secuencia análoga de cualquiera de las tres anteriores. Por tanto, la secuencia objeto de la invención recogido en la reivindicación 9 ha sido divulgado en el documento D02, ya que un fragmento de la misma ha sido divulgado. Por consiguiente, la reivindicación 9 no es nueva en el sentido del artículo 6.1 Ley 11/1986.

Tanto las secuencias de DNA: SEQ ID NO1, SEQ ID NO3 y SEQ ID NO5; como las secuencias proteicas: SEQ ID NO2, SEQ ID NO4 y SEQ ID NO6, no han sido divulgadas en el estado de la técnica. Por lo que el objeto de la invención tal y como se recoge en las reivindicaciones 2-8 y 10-21 es nuevo en el sentido del artículo 6.1 Ley 11/1986.

2. ACTIVIDAD INVENTIVA (ART. 8.1 Ley 11/1986)

El documento D03 publica el uso de la β -galactosidasa como enzima en procesos alimenticios, ya que cataliza la hidrólisis de lactosa. (Ver resumen e introducción)

El documento D04 divulga el uso de la β -galactosidasa en procesos de hidrólisis de la lactosa en su aplicación en alimentación, en particular, en la obtención de productos y subproductos lácteos. (Ver páginas 1-102)

La invención definida en las reivindicaciones 13 y 18 acerca del uso para la reducción del contenido de lactosa en los alimentos o residuos de procesos alimentarios, no difiere de la técnica conocida descrita en los documentos D03 o D04 en ninguna forma esencial. Por lo tanto, la invención según las reivindicaciones 13 y 18 se considera obvia para un experto en la materia. Por consiguiente, la invención según las reivindicaciones 13 y 18 no se consideran que impliquen actividad inventiva en el sentido del artículo 8.1 Ley 11/1986.

Como ya se ha indicado en el apartado de novedad, las reivindicaciones 1 y 9 no son nuevas, por tanto carecen de actividad inventiva en el sentido del artículo 8.1 Ley 11/1986.

Los métodos de acuerdo con las reivindicaciones 19-21 son conocidos para un experto en la materia como métodos de expresión y purificación de proteínas. Así la invención reivindicada en las reivindicaciones 19-21 no es nueva y por lo tanto carece de actividad inventiva en el sentido del artículo 8.1 Ley 11/1986.

Por lo que el objeto de la invención tal y como se recoge en las reivindicaciones 2-8; 10-12 y 14-17 tiene actividad inventiva en el sentido del artículo 8.1 Ley 11/1986.

En conclusión las reivindicaciones 1, 9, 13, 18 y 19-21 carecen de actividad inventiva en el sentido del artículo 8.1 Ley 11/1986.